Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

THE UNIVERSITY
OF ILLINOIS
LIBRARY
589.05
CE
~~Sou.2~~
v.76
NATURAL
HISTORY
LIBRARY
BIOLOGY

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Return this book on or before the
Latest Date stamped below.

University of Illinois Library

NOV 26 1956

SEP 18 1958

L161—H41

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Erste Abteilung. 76. Band

Originale

Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

In Verbindung mit

Prof. Dr. R. Abel,
Geh. Obermed.-Rat in Jena

Prof. Dr. R. Pfeiffer
Geh. Med.-Rat in Breslau

und

Prof. Dr. M. Braun
Geh. Reg.-Rat in Königsberg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm
Geh. Reg.-Rat in Berlin

und

Dr. A. Weber
Geh. Reg.-Rat in Berlin-Lichterfelde

Erste Abteilung. 76. Band

Medizinisch-hygienische Bakteriologie
und tierische Parasitenkunde

Originale

Mit 19 Tafeln und 62 Abbildungen im Text

Jena
Verlag von Gustav Fischer
1915

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

589.05
CE

Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

589.05
CE
v.76

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 76. Heft 1.

Ausgegeben am 14. Mai 1915.

Nachdruck verboten.

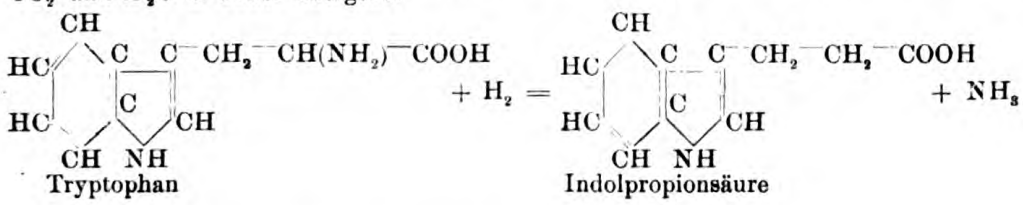
Quantitative Untersuchungen über den Indol- und Tryptophanumsatz der Bakterien.

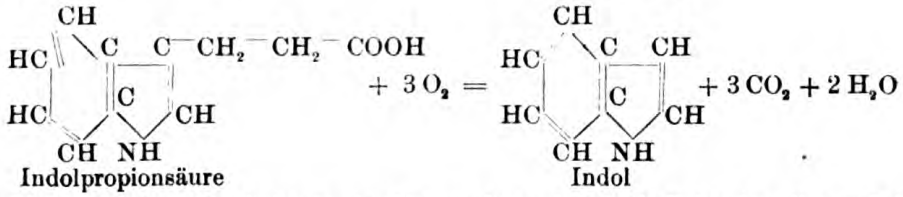
[Aus dem Laboratorium der Medizin. Klinik (Dir. Prof. Eichhorst) und aus dem Hygiene-Institut (Dir. Prof. Silberschmidt) der Universität Zürich.]

Von **E. Herzfeld** und **R. Klinger.**

Die Indolbildung, welche in Kulturen bestimmter Bakterienarten zu beobachten ist, wurde in den letzten Jahren sowohl nach ihrer chemischen wie nach ihrer praktischen Seite (als Merkmal für die Bestimmung gewisser Mikroorganismen) eingehend untersucht. Aus den Arbeiten von Ellinger und Flamand ging hervor, daß das Indol aus einer chemisch genau definierten Aminosäure, dem zuerst von Kühne aufgefundenen Tryptophan, entsteht, und daß daher eine Indolbildung nur in solchen Nährböden stattfinden kann, in welchen dieses Abbauprodukt der Eiweißkörper angetroffen wird.

Die einzelnen Phasen des Umwandlungsprozesses, welches vom Tryptophan zum freien Indol führt, sind noch nicht sicher festgestellt. Nach Hopkins und Cole[1]) wird das Tryptophan (β-Indol-α-Aminonpropionsäure), zunächst unter Bildung von Ammoniak zu Indolpropionsäure reduziert, welche durch Oxydation unter Abspaltung von CO_2 und H_2O in Indol übergeht:





Ob der Verlauf des Abbaues des Tryptophans durch die Bakterien diesem Schema tatsächlich entspricht, ist vorläufig nicht entschieden. Aus den folgenden Untersuchungen scheint es nicht unwahrscheinlich, daß sich derselbe bei verschiedenen Bakterienarten anders gestaltet. Als Zwischenstufen zwisehen Tryptophan und Indol kommen neben Indolpropion- noch Indolessigsäure und Indolkarbonsäure in Betracht. Auftreten von Indolpropionsäure ist in aëroben Kulturen nicht zu erwarten (s. obiges Schema). Indolessigsäure und Indolkarbonsäure sind bereits in Bakterienkulturen nachgewiesen, z. B. für Proteus-Stämme durch Berthelot. Die Untersuchungen dieses Forschers (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1914. p. 839) sind darum für unsere Frage von besonderem Interesse, weil sie zeigen, daß die Tryptophanzersetzung durch einzelne Bakterien nur bis zur Indolessigsäure geht. Wir haben genauere Untersuchungen über diese Tryptophanderivate nicht vorgenommen, da ihr Nachweis, speziell die quantitative Bestimmung derselben auf große Schwierigkeiten stößt.

1) Journ. of Physiol. Vol. 29. 1906. p. 451.

335153

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das Vermögen, in tryptophanhaltigen Nährmedien Indol zu produzieren, wurde bei einer großen Anzahl von Mikroorganismen und unter Benutzung neuerer Methoden für den Indolnachweis von Zipfel[1]) untersucht; hierbei ergab sich, daß nur das Bact. coli und gewisse, ihm nahestehende Bakterienarten (Paradysenteriebakterien u. a.) sowie der Vibrio cholerae und einige Cholera-ähnliche Vibrionen Indol zu bilden imstande ist. Das von diesem Autor nicht näher geprüfte Bact. proteus ist nach den Ergebnissen der oben erwähnten Arbeit Berthelots bald indolpositiv, bald nicht.

Zur Erklärung des Indol-negativen Verhaltens der übrigen Bakterien wurde meist angenommen, daß dieselben das Tryptophanmolekül intakt lassen, die Aminoproprionsäure-Gruppe also nicht abzuspalten vermögen, und daß aus diesem Grunde kein Indol in den Kulturen nachweisbar sei. Diese Anschauung stützte sich u. a. auf die Proteinochrom- (Tryptophan)-Reaktion, die in Peptonwasserkulturen gewisser Nichtindolbildner zu beobachten ist und auf unzersetztes Trytophan zurückzuführen ist. Quantitative Untersuchungen über den Tryptophangehalt solcher Kulturen sind aber unseres Wissens bisher nicht gemacht worden.

Im folgenden soll über Untersuchungen berichtet werden, in welchen die von dem einen von uns ausgearbeiteten quantitativen Methoden des Tryptophan- und Indolnachweises[2]) angewendet wurden, um den Stoffwechsel verschiedener Mikroorganismen nach dieser Richtung eingehender zu studieren.

Die Tryptophanbestimmungen wurden, wie folgt, ausgeführt: Zur Isolierung des etwa gebildeten Indols schüttelt man die Kulturflüssigkeit 10—15 Minuten kräftig mit 50 ccm Xylol. Die untere wässerige Schicht wurde mit destilliertem Wasser bis 50 ccm aufgefüllt und mit folgenden Reagentien versetzt:

1) 20 g p-Dimethylaminobenzaldehyd, gelöst in 500 ccm $\overline{cc}$ HCl + 500 ccm Wasser.
2) Konzentrierte Salzsäure.

10 ccm Lösung 1) und 40 ccm Lösung 2) in der Kälte erzeugen dann zunächst eine violette und schließlich nach einigen Tagen eine beständig tiefblaue Farbe. Man läßt so lange im Dunkeln stehen, bis die Blaufärbung nicht mehr zunimmt; im schlimmsten Falle dauerte dies 5 Tage. Man filtriert nun durch ein Doppelfilter in die eine Kuvette eines Kolorimeters und bringt in die andere Kuvette eine Kupfervergleichslösung (1 ccm einer 1-proz. $CuSO_4$-Lösung + 20 ccm Ammoniak, aufgefüllt mit H_2O bis 100 ccm, entspricht 0,1 mg Tryptophan). Bezeichnet man die Schichtdicke der Vergleichslösung mit „a", und die der zu prüfenden Lösung mit „b", so ergibt $\frac{a}{b}$ eine Zahl, mit welcher die 0,1 mg Tryptophan multipliziert werden müssen, um den Tryptophangehalt der zu prüfenden Lösung zu ermitteln. Da aber nur 50 ccm der zu prüfenden Tryptophanlösung durch den Zusatz der Reagentien auf 100 ccm gebracht wurden, so muß die gefundene Zahl noch mit 2 multipliziert werden, um den Prozentgehalt derselben an Tryptophan zu bekommen.

Zur Indolbestimmung wurde die Xylollösung verwendet. Erforderliche Lösungen: 1) 200 g p-Dimethylaminobenzaldehyd gelöst in 500 ccm $\overline{cc}$ HCl + 500 ccm Wasser. 2) Absoluter Alkohol. Man fügt zur Xylollösung 25 ccm der Lösung 1) und 25 ccm der Lösung 2) und schüttelt etwa 5—10 Minuten. Die untere Schicht wird in eine Kuvette des Kolorimeters filtriert; in die andere Kuvette bringt man eine Vergleichslösung, welche mit Hilfe einer bekannten Indolmenge (0,1—0,5 mg) genau in derselben Weise hergestellt wurde. Die Berechnung ist wie oben auszuführen. Zum qualitativen Indolnachweis wurde auch die Nitrosoindolprobe (Baeyer) ausgeführt, wobei das Indol vom Tryptophan durch Destillation getrennt wurde.

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. 64. p. 65; Bd. 68. p. 572.
2) Herzfeld, E., Biochem. Zeitschr. Bd. 56. 1913. H. 3; Herzfeld, E., und Baur, J., Centralbl. f. inn. Med. 1913. No. 11.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wir haben zuerst Versuche mit chemisch reinem Tryptophan[1]) gemacht, von welchem eine sterile Stammlösung bereitet und hiervon geeignete Mengen teils in Wasser allein, teils unter Zusatz verschiedener Salze der Einwirkung von Bakterien unterworfen wurden. Wir wählten je zwei typische Vertreter der Indolbildner und der nichtindolbildenden, nämlich B. coli und Vibrio cholerae einerseits, Bact. typhi und einen Stamm von Bact. paratyphi B andererseits. Von diesen Bakterien wurde, da in Abwesenheit der erforderlichen Nährsalze eine Vermehrung nicht zu erwarten war, größere Mengen von der Oberfläche frischer Agarkulturen sorgfältig abgenommen, eventuell in physiologischer NaCl-Lösung einmal gewaschen und hierauf in die Versuchskolben gebracht. Nach 1—2-tägigem Verweilen bei 37° C wurde hierauf die noch vorhandene Tryptophanmenge bestimmt, sowie auf Anwesenheit von Indol geprüft.

Zur Technik sei noch folgendes bemerkt: Die Versuche wurden in Erlenmeyer-Kolben ausgeführt, in welche meist 50 ccm der betreffenden Flüssigkeit zunächst ohne Tryptophan gebracht wurde. Nach Sterilisierung im Autoklaven wurde der Kolben mit einem gut ausgekochten Kautschukpfropfen verschlossen, nach Abkühlung auf 37° C mit 1—2 ccm der Tryptophanlösung (entsprechend 1—2 mg Tryptophan) versetzt und mit den Bakterien beschickt. Von diesen Kölbchen wurden für jede Versuchsserie 5 gleichzeitig und in ganz gleicher Weise vorbereitet. 4 wurden mit den 4 Bakterienarten beimpft, das 5. diente als Kontrolle; diese ist für jeden Versuch neu anzusetzen, da das Tryptophan eine spontane, in verschiedenen Nährmedien ungleiche Zersetzung erleidet (5—20 Proz. der verwendeten Menge).

Versuche in destilliertem Wasser.

a) Je $^1/_3$ Agarkultur. Bebrütung 20 Stunden.

Einsaat	Tryptophangehalt	Indolgehalt
Keine Bakterien	1,00 mg	0,0 mg
Vibrio cholerae	0,15 „	0,22 „
Bact. coli	0,00 „	0,50 „
„ typhi	0,38 „	0,00 „
„ paratyphi B	0,39 „	0,00 „

In anderen Versuchen ergaben Choleravibrionen keine Indolbildung, jedenfalls, weil sie zu schnell aufgelöst wurden; die Indolmenge wurde in diesen Versuchen nur ungefähr bestimmt (+++ stark positiv, Sp. Spuren).

Einsaat	Versuch b (40 St. Brutschrank)		Versuch c (18 St. Brutschrank)	
	Tryptophan	Indol	Tryptophan	Indol
Keine Bakterien	0,67 mg	neg.	1,67 mg	neg.
Vibrio cholerae	0,38 „	Sp.	1,34 „	Sp.
Bact. coli	0,00 „	+++	0,00 „	+++
„ typhi	0,35 „	Sp.	1,00 „	Sp.
„ paratyphi B	0,32 „	neg.	1,12 „	Sp.

1) Für die freundliche Ueberlassung eines chemisch reinen Tryptophanpräparates möchten wir der Firma Hoffmann-La Roche an dieser Stelle unseren besten Dank aussprechen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuche in physiologischer (0,8-proz.) NaCl-Lösung.

a) Einsaat $^1/_8$ Agarkultur gewaschener Bakterien. Bebrütung 24 Stunden.

Einsaat	Tryptophan	Indol
Keine Bakterien	1,00 mg	0,00 mg
Vibrio cholerae	0,22 „	0,42 „
Bact. coli	0,00 „	0,55 „
„ typhi	0,43 „	Spuren
„ paratyphi B	0,43 „	0,00 mg

Aehnliche Versuche, in denen die Indolmenge nur approximativ bestimmt wurde:

Einsaat	Versuch b		Versuch c		Versuch d		Versuch e
	Trypt.	Indol	Trypt.	Indol	Trypt.	Indol	Trypt.
Keine Bakterien	0,80 mg	neg.	0,50 mg	neg.	0,67 mg	Sp.	1,25 mg
Vibrio cholerae	0,00 „	+++	0,00 „	+++	0,00 „	++	0,00 „
Bact. coli	0,00 „	+++	0,00 „	+++	0,00 „	+++	0,00 „
„ typhi	0,62 „	neg.	0,40 „	Sp.	0,62 „	Sp.	0,74 „
„ paratyphi B	0,66 „	neg.	0,42 „	Sp.	0,44 „	Sp.	—

Die Protokolle zeigen die quantitativen Verhältnisse, welche zwischen Tryptophanverbrauch und Indolproduktion bestehen. Von den Indolbildnern wirkte besonders das B. coli sehr energisch auf das Tryptophan, so daß dasselbe stets vollständig verschwunden war. Die Choleravibrionen ließen dagegen einen größeren oder kleineren Teil des Tryptophans unzersetzt; dementsprechend war ihre Indolproduktion etwas geringer als die von B. coli. Die beiden Vertreter der indolnegativen Mikroorganismen ließen kein oder doch nur Spuren von Indol erkennen; auffallend war aber der Umstand, daß in diesen Kulturen keineswegs, wie zu erwarten gewesen wäre, das Tryptophan unzersetzt nachweisbar war. Stets wurde vielmehr ein Teil desselben, der zwischen 20 und 60 Proz. schwankt, verbraucht.

Bei etwas längerer Versuchsdauer, weiteres Wachstum der Bakterien vorausgesetzt, verschwindet schließlich alles Tryptophan, wie folgender Versuch zeigt:

2 Kolben mit je 70 ccm physiologischer NaCl-Lösung und Zusatz von 2 mg Tryptophan werden in den Brutschrank gestellt, nachdem der eine mit einer größeren Menge Typhusbacillen infiziert wurde. Nach 14, 38 und 100 Stunden werden aus jedem Kolben je Proben von 20 ccm entnommen und auf Tryptophan geprüft:

	14 Std.	38 Std.	100 Std.
Kolben infiziert	0,33 mg	Spuren	0,00 mg
„ steril	0,66 „	0,35 mg	0,30 „

Indolprüfung stets negativ.

Wir kommen auf diesen Befund, daß Typhus- und Paratyphusbacillen Tryptophan ohne Indolbildung abzubauen vermögen, weiter unten wieder zurück.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuche in Salzlösungen.

a) Nährsalzgemisch ohne N-Gehalt: Mischung H_3, bestehend aus $MgHPO_4$ 0,5 g, K_2CO_3 0.4 g, $CaCl_2$ 0,3 g, NaCl 6,0 g, Aqua dest. 1000,0 g. Kolben mit je 50 ccm dieser sterilisierten Lösung werden nach Tryptophanzusatz mit je 1 Oese Bakterien geimpft und bleiben 25 Stunden bei 37°.

Einsaat	Reaktion	Tryptophan	Indol
Keine Bakterien	neutral	1,82 mg	neg.
Vibrio chol.	„	0,00 „	++
Bact. coli	schwach sauer	0,00 „	++
Bact. typhi	„ „	0,54 „	Sp.
Bact. paratyphi	„ „	0,58 „	Sp.

In den folgenden Versuchen wurde zur Salzlösung H_3 teils Asparagin, teils NH_4Cl zugesetzt:

a) Salzmischung H_3 + 0,2 Proz. NH_4Cl.

Einsaat	Reaktion	Tryptophan	Indol
Keine Bakterien	sauer	1,67 mg	Sp.
Vibrio chol.	„	0,90 „	+
Bact. coli	„	0,00 „	++
Bact. typhi	„	0,80 „	Sp.
Bact. paratyphi	„	0,80 „	Sp.

Die verminderte Indolbildung durch Vibrio chol. ist zweifellos durch die saure Reaktion und das dadurch bedingte schlechtere Wachstum bedingt.

b) Salzgemisch H_3 + 0,5 Proz. Asparagin.

Einsaat	Reaktion	Tryptophan	Indol
Keine Bakterien	schwach sauer	0,80 mg	neg.
Vibrio chol.	neutral	0,00 „	++
Bact. coli	„	0,00 „	++
Bact. typhi	„	0,40 „	Sp.
Bact. paratyphi	„	0,57 „	Sp.

Es zeigt sich, daß Zugabe anderer, sowohl anorganischer wie organischer N-haltiger Körper auf die Indolbildung ohne Einfluß ist, solange dieselben ein gewisses Maß nicht überschreiten. Anders verhält es sich, wenn größere Mengen von den Bakterien leicht zugänglichen N-Verbindungen zugegen sind, wie es etwa in Peptonlösungen der Fall ist.

Versuche mit Peptonlösungen.

Versuch a. 1,5 ccm Peptonlösung Witte in 50 ccm dest. Wasser. Einsaat 1 Oese Kultur. Bebrütung 24 Stunden.

Versuch b. Dgl., statt Wasser Nährmedium H_3; 2,0 Peptonlösung. Reaktion in beiden Versuchen neutral.

Einsaat	Versuch a in Wasser		Versuch b in H_3	
	Tryptophan	Indol	Tryptophan	Indol
Keine Bakterien	1,12 mg	0,00 mg	1,42 mg	0,00 mg
Vibrio chol.	1,00 „	0,00 „	0,90 „	0,22 „
Bact. coli	0,90 „	0,15 „	0,90 „	0,18 „
Bact. typhi	0,76 „	0,00 „	0,72 „	0,00 „
Bact. paratyphi	0,84 „	0,00 „	0,76 „	0,00 „

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Im folgenden Versuch wurde durch Zusatz von sauren resp. alkalischen Salzen (Phosphaten) die Reaktion geändert:

a) 3,0 ccm Peptonlösung + 47,0 ccm NaCl-Lösung.
b) 3,0 ccm Peptonlösung + 2,5 Proz. K_2HPO_4-Lösung und 0,8 Proz. NaCl-Lösung āā 24,0.
c) 3,0 ccm Peptonlösung + 1,98 Proz. KH_2PO_4-Lösung und 0,8 Proz. NaCl-Lösung āā 24,0.

Einsaat	Versuch a			Versuch b			Versuch c		
	Reakt.	Trypt.	Indol	Reakt.	Trypt.	Indol	Reakt.	Trypt.	Indol
Keine Bakterien	neutral	1,82	Sp.	alk.	1,00	Sp.	sauer	1,34	Sp.
Vibrio chol.	schw. alk.	1,00	+++	„	0,84	+++	„	kein Wachst.	
Bact. coli	neutral	1,06	+++	„	0,96	++	„	1,18	++
Bact. typhi	„	1,00	Sp.	„	1,00	Sp.	„	1,12	neg.
Bact. paratyphi	„	1,12	neg.	„	0,96	Sp.	„	1,00	Sp.

Die Versuche mit Pepton ergaben somit, daß von dem im Nährmedium zur Verfügung stehenden Tryptophan stets nur ein relativ kleiner Teil abgebaut wurde in einer Bebrütungsdauer, während welcher bei Verwendung reinen Tryptophans immer alles, was von dieser Substanz vorhanden war, verbraucht wurde. Dementsprechend war auch die aus Pepton erzeugte Indolmenge, auf die gleiche Menge Tryptophan bezogen, stets kleiner als die in reinen Tryptophanlösungen erhaltene (ca. 0,12—0,14 gegenüber 0,5—0,55 mg aus je 1,00 mg Tryptophan). Von Typhus- und Paratyphusbacillen werden ebenso große, zum Teil noch größere Mengen des im Pepton enthaltenen Tryptophans abgebaut als durch B. coli oder Vibrio cholerae, wobei aber auch hier jede Indolbildung ausbleibt. Alkalische Reaktion wirkte günstig auf die Tryptophanzersetzung durch Choleravibrionen; B. coli wurde weder durch alkalische noch durch saure Reaktion des Milieus an der Indolproduktion gehindert; wohl aber erfuhr der aktive Abbau des Tryptophans durch Typhus und Paratyphusbacillen bei alkalischer, etwas weniger bei saurer Reaktion eine Herabsetzung.

Die Ursache der relativ geringen Tryptophanzersetzung, welche die Bakterien in Peptonkulturen bewirken, kann auf zweifache Weise seine Erklärung finden. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß in dem Gemisch zahlreicher ähnlicher, N-haltiger Körper, wie es Peptonlösungen vorstellen, bestimmte Verbindungen leichter von den Bakterien angegriffen und daher dem Tryptophan vorgezogen werden. Es wäre aber auch möglich, daß der Tryptophanverbrauch im Pepton tatsächlich viel größer ist als es unsere Bestimmungen erkennen lassen, und daß derselbe durch Neuentstehung von Tryptophan verdekt würde. Wir haben nämlich gefunden, daß gewisse Bakterien durch das peptolytische Vermögen, welches ihnen zukommt, in Peptonlösungen zu einer Vermehrung des Tryptophans führen können. In solchen Kulturen läßt sich daher nicht entscheiden, wieviel Tryptophan von den Bakterien verbraucht wurde, da die Menge des im ganzen abgespaltenen Tryptophans nicht bekannt ist.

Wie große Mengen von Tryptophan durch diese Abbauvorgänge frei werden können, zeigen die folgenden Protokolle:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kölbchen mit je 25 ccm Peptonlösung; 2 Tage 37°.

Einsaat	Tryptophan	Indol
a) Keine Bakterien	0,60 mg	
B. pyocyaneum	2,15 „	
B. proteus	1,90 „	
Staphylococcus pyog.	0,75 „	
Bact. typhi	0,46 „	
b) Keine Bakterien	0,65 „	0,45 mg
Bact. coli	1,90 „	0,58 „
Bact. typhi	0,38 „	0,50 „

Diese Zahlen lassen ein eigenartiges Verhalten der Typhusbacillen im Gegensatz zu den übrigen untersuchten Mikroorganismen hervortreten. Während einzelne derselben, wie z. B. B. pyocyaneum, zu einer sehr starken Vermehrung des Tryptophans führen, andere dasselbe im Vergleich zur Kontrolle nicht oder nur wenig erhöhen (Staphylokokken), ergaben die Typhusbacillenkulturen stets eine Abnahme des Tryptophans. Daraus könnte der Schluß berechtigt erscheinen, daß diese Bakterienart in besonders starkem Grade Tryptophan verbrauche. Dieser Annahme widersprechen aber die oben mitgeteilten Versuche mit reinem Tryptophan, in welchen die Typhusbacillen sich zwar fähig erwiesen, diese Substanz zu verbrauchen, wobei aber die Intensität dieses Umsatzes weit hinter der des B. coli zurückblieb. Der auffallend niedrige Tryptophangehalt, den Peptonkulturen von Typhusbacillen aufweisen, dürfte somit nicht in einem stärkeren Verbrauch, sondern in einem geringeren Freiwerden dieses Stoffes begründet sein, bedingt durch eine schwächere peptolytische Wirkung der Typhusbacillen. In diesen Kulturen überwiegt der Konsum die Produktion und führt zu einer negativen Tryptophanbilanz, während stärker peptolytisch wirkende Mikroorganismen mehr Tryptophan abspalten, als sie, trotz einem absolut größeren Konsum, verbrauchen können.

Der Umstand, daß auch indolnegative Bakterien Tryptophan verbrauchen, drängte uns die Frage auf, warum trotz dem Verschwinden des Tryptophanmoleküls in diesen Kulturen kein Indol nachweisbar sei? Wird in diesem Falle auch das Indol zum Aufbau der Bakterien verwendet? Einige Versuche, welche wir zunächst mit Typhus- und Paratyphusbacillen unternahmen, sprachen in der Tat dafür, daß die nicht indolbildenden Mikroorganismen freies Indol zu verwerten vermögen.

Die folgenden Protokolle zeigen, wiviel Indol von verschiedenen Bakterienarten in Nährböden von wechselnder Zusammensetzung verbraucht wird; es wurden zunächst die schon früher benutzten Vertreter der indolpositiven und -negativen Mikroorganismen untersucht.

Kölbchen mit Salzlösung H_3 (50 ccm) und Zugabe von 1—2 ccm 1 ‰ alkoholischer Indollösung.

Bebrütungsdauer bei a) 2 Tage, bei b) 8 Tage. Die Zahlen geben die gefundene Indolmenge in mg.

In Versuch c) und d) wurde zu H_3 noch $^1/_4$ Proz. NH_4Cl zugesetzt. Bebrütung bei c) 2, bei d) 8 Tage.

Einsaat	a	b	c	d
Keine Bakterien	1,00	0,90	2,00	1,00
Vibrio chol.	0,91	—	1,82	—
Bact. coli	0,91	0,90	2,00	0,90
Bact. typhi	0,71	0,80	1,42	0,70
Bact. paratyphi B	0,70	0,80	1,43	0,63

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es zeigt sich, daß die Nichtindolbildner zu einer deutlichen Verminderung des Indols geführt haben, deren Größe hauptsächlich von der Intensität des Wachstums abhängt, allerdings gewisse, relativ enge Grenzen nicht überschreitet (10—30 Proz. der verwendeten Indolmenge). Der Indolverbrauch findet schon in den ersten Tagen statt und schreitet bei Verlängerung der Versuchsdauer nicht mehr wesentlich fort. Es könnte sich dies durch den allmählichen Stillstand des Wachstums der eingesäten Bakterien oder durch die Bildung von Spaltprodukten des Indols, welche einen weiteren Abbau desselben hemmen, erklären.

In den folgenden Versuchen ist die Rolle verschiedener Zusätze untersucht.

a) H_3-Lösung + 0,3 Proz. Asparagin, 2 Tage bebrütet.
b) „ + 0,5 „ Traubenzucker, 2 Tage bebrütet.
c) „ + 0,5 „ Milchzucker, 2 Tage bebrütet.
d) „ + $^1/_3$ Volumen einer $^1/_2$-proz. Peptonlösung, 8 Tage bebrütet.

Einsaat	a	b	c	d
Keine Bakterien	1,00	0,96	0,96	0,90
Vibrio chol.	0,91	0,91	0,92	—
Bact. coli	0,91	0,94	0,91	0,90
Bact. typhi	0,77	0,65	0,83	0,70
Bact. paratyphi B	0,79	0,67	0,83	0,50

Anwesenheit anderer N-Quellen hat somit den Indolverbrauch nicht beeinflußt.

Als wir hierauf auch einige Vertreter anderer Hauptgruppen der Mikroorganismen auf Indolverbrauch untersuchten, stellte sich heraus, daß die bei Typhus- und Paratyphusbacillen beobachtete Eigenschaft keineswegs allen indolnegativen Bakterien zukommt, vielmehr nur ausnahmsweise angetroffen wird. Das folgende Protokoll gibt einige dieser Versuche wieder:

50 ccm Salzlösung H_3 mit $^1/_3$ Volumen $^1/_2$-proz. Peptonlösung und Zusatz von 0,5 ccm einer 1 ‰ alkoholischen Indollösung. Bebrütungsdauer 8 Tage:

Kontrolle: 0,50 mg Indol. Bac. subtilis: 0,55 mg. Milzbrandbacillen: 0,52 mg Indol. Bact. proteus: 0,50 mg. Bact. pyocyaneum: 0,56 mg. Staphylococcus aureus: 0,50 mg. Diphtheriebacillen: 0,28 mg. Wasservibrio (indolbildend, als Kontrolle): 1,15 mg.

Es zeigt sich, daß das Vermögen, freies Indol zu konsumieren, unter den geprüften Mikroorganismen nur den Diphtheriebacillen in deutlichem Grade eigen ist.

Um uns zu überzeugen, daß der mit Diphtheriebacillen beobachtete Indolverbrauch tatsächlich für diese Bakterienart charakteristisch sei, haben wir noch einige andere Diphtheriestämme in dieser Richtung geprüft. Es ergab sich durchgehend eine bald größere, bald geringe Abnahme des zugesetzten Indols:

Kontrolle (25 ccm Bouillon + 0,5 ccm alkoholische Indollösung): 0,50 mg Indol. Diphtheriestamm Basslang: 0,42 mg. D. Wehrlin: 0,30 mg. D. Hammer: 0,18 mg. D. Wurz: 0,25 mg. D. Michel: 0,35 mg. D. Gruber (avirulent): 0,41 mg. Kulturdauer 7 Tage.

Pseudodiphtheriebacillen verhalten sich gleich den echten Diphtheriestämmen, wie folgende Zahlen zeigen:

Je 30,0 ccm Peptonlösung + 0,5 ccm 1-proz. alkoholische Indollösung. 8 Stunden im Brutschrank.

Kontrolle: 0,55 mg Indol. Pseudodiphtheriestamm No. 1: 0,24 mg. Dgl. No. 2: 0,35 mg. Dgl. No. 3: 0.22 mg. Dgl. No. 4: 0,18 mg.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Gruppe der Typhus-Paratyphusbacillen geht bekanntlich durch sehr zahlreiche Uebergangsformen in diejenige der Coli-Bacillen über. Neben anderen kulturellen Merkmalen dient auch das Vermögen der Indolbildung zur Abgrenzung des B. coli gegen diese Zwischenformen. Bei mangelnder Indolproduktion pflegen wir einen Coli-Stamm als atypisch zu bezeichnen. Wir haben nun eine Anzahl derartiger atypischer Stämme auf die Fähigkeit, freies Indol zu verbrauchen, untersucht. Es ergab sich immer Ausbleiben einer Indolabnahme, somit ein dem typischen B. coli gleiches Verhalten. Leider verfügen wir zur Zeit nicht über eine genügend große Anzahl von geeigneten Stämmen, um zu entscheiden, ob das Fehlen resp. Vorhandensein dieser Eigenschaft ein bei der Trennung der Paratyphus- und Coli-Gruppe brauchbares Merkmal abgeben wird.

Eine Prüfung verschiedener Stämme der Paratyphusgruppe ergab folgende Werte:

Je 50 ccm $^1/_5$-proz. Peptonlösung (āā mit Salzgemisch H_3 verdünnt) + 0,5 ccm 1-proz. Indollösung. 7 Tage im Brutschrank.

Kontrolle: 0,52 mg Indol. Paratyphus B Birchler: 0,40 mg. Dgl. Thusnelda: 0,35 mg. Dgl. Wurst: 0,40 mg. Bact. enteritidis Gärtner: 0,36 mg. Mäusetyphus: 0,38 mg. Bact. paratyphi Aertryk: 0,45 mg. Dgl. Haustedt: 0,42 mg. Bact. proteus als Kontrolle: 0,92 mg.

Die relativ geringste Affinität zu Indol haben somit die dem Coli schon näher stehenden Stämme Aertryk und Haustedt. Bact. proteus hat in dieser Kultur sogar zu einer Vermehrung des Indols geführt.

Ob die Eigenschaft, freies Indol zu verbrauchen, mit dem Mangel der Indolproduktion der betreffenden Mikroorganismen zusammenhängt, muß freilich dahingestellt bleiben. Es wäre wohl denkbar, daß es sich hierbei bloß um einen Nebenbefund handelt, und daß die Bildung freien Indols in den Kulturen darum ausbleibt, weil diese Bakterien das Tryptophan überhaupt nicht bis zum Auftreten von Indol zersetzen (z. B. nur bis zur Indolessigsäure), dasselbe eventuell schon vorher, vielleicht ganz ungeteilt, zum Aufbau höherer Verbindungen verwenden. Ein solches Verhalten muß sogar für diejenigen Bakterien, welche weder Indol zu bilden noch zu verbrauchen vermögen, als wahrscheinlich gelten, da dieselben freies Tryptophan gleichwohl in ihren Kulturen zum Verschwinden bringen.

Zum Schluß seien einige Untersuchungen über den Einfluß von Zuckerzusatz auf die Indolbildung mitgeteilt.

Bekanntlich wird die Indolbildung des Bact. coli durch Zusatz von Zucker gehemmt (Kruse, Selter, de Graaf, Péré u. a.). Von Interesse sind in dieser Hinsicht in erster Linie neuere Untersuchungen von Distaso[1], welcher fand, daß Bact. coli in Nährlösungen, die reines Tryptophan als einzige N-Quelle enthalten, stets Indol bilde, auch wenn Trauben- oder Milchzucker zugesetzt wird; im peptonhaltigen Milieu bleibe dagegen die Indolreaktion unter diesen Umständen negativ. Fügte er zu einer Tryptophanlösung neben Zucker noch Asparagin, so bildete sich nur bei Milchzucker-, nicht mehr bei Traubenzuckerzusatz Indol. Beide Proben reagierten sauer; er nahm daher an, daß nicht die durch Zuckerspaltung hervorgerufene saure Reaktion des Nährbodens die Ursache der fehlenden Indolbildung sei, sondern daß bei Anwesenheit einer anderen N-Quelle neben Tryptophan diese zuerst herangezogen werde, dann der Zucker, während das Tryptophan unbeachtet bleibe, dank einer von ihm angenommenen Vorliebe des Bact. coli für weniger kompliziert gebaute N-Körper; ähnliche Verhältnisse sollten auch im Darm zur Geltung kommen.

In letzter Zeit hat Rongentzoff[2]) eine größere Anzahl verschiedener Coli-Stämme auf Indolbildung in peptonhaltigen Nährböden, denen verschiedene Zucker zu-

1) Compt. rend. Soc. Biol. T. 75. 1913. p. 160.
2) Compt. rend. Soc. Biol. T. 75. 1913. p. 1098.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gesetzt wurden, untersucht. Auch er fand Ausbleiben der Indolproduktion bei Trauben-, Frucht- oder Milchzucker, sowie bei Mannitzugabe, also bei Zuckerarten, die von Bact. coli rasch unter starker Säureproduktion vergärt werden. Nahm er schlecht gärbare Zucker, wie Maltose, Saccharose, Dulcit, so trat Indol auf. Er kam daher zu dem Schluß, daß die Zucker der ersten Gruppe die N-Körper schütze, ohne sich über das Wesen dieses Schutzes auszusprechen.

Zu einer ähnlichen, das zugrunde liegende Problem eigentlich nur umschreibenden Schlußfolgerung war schon Péré[1]) gekommen, welcher die saure Reaktion als solche dadurch als Ursache des Ausbleibens der Indolbildung ausschloß, daß er seiner zuckerhaltigen Peptonlösung ungelöstes Ca-Karbonat beimengte: trotz dauernd neutraler Reaktion trat kein Indol auf. Auch er nahm daher an, daß die Bakterien das Kohlehydrat leichter assimilieren und daher das Pepton nicht angreifen.

Wir haben zunächst den Einfluß von Trauben- und Milchzucker auf die Zersetzung einer reinen Tryptophanlösung quantitativ untersucht:

Zu je 50 ccm Salzlösung H_2 wird 0,5 Proz. Zucker- und 1 ccm reiner Tryptophanlösung zugesetzt; die Kolben bleiben nach Infektion mit den 4 Bakterienarten 18 Stunden im Brutschrank.

A. Traubenzucker.

Bakterienart	Versuch 255		Reaktion	Versuch 244	
	Tryptophan	Indol		Tryptophan	Indol
Kontrolle	0,80	—	schwach sauer	0,33	—
Vibrio cholerae	0,40	+	„ „	0,16	+
Bact. coli	0,33	Sp.	neutral	0,10	Sp.
„ typhi	0,42	Sp.	„	0,36	Sp.
„ paratyphi	0,40	—	schwach sauer	0,40	—

B. Milchzucker.

Bakterienart	Versuch 260		Reaktion	Versuch 249		Versuch 219		Reakt.
	Trypt.	Indol		Trypt.	Indol	Trypt.	Indol	
Kontrolle	0,72	—	schw. sauer	0,40	Sp.	0,32	—	sauer
Vibrio cholerae	0,00	++	neutral	0,00	++	0,00	++	„
Bact. coli	0,00	++	schw. sauer	0,00	++	0,00	++	„
„ typhi	0,66	Sp.	„ „	0,36	Sp.	0,24	Sp.	„
„ paratyphi	0,70	—	„ „	0,40	Sp.	0,26	—	„

Wir finden somit, im Gegensatz zu den Beobachtungen Distasos, daß der von uns benutzte Coli-Stamm in seiner Indolbildung durch Traubenzucker auch dann gehemmt wird, wenn das Tryptophan als alleinige N-Quelle vorhanden ist; unser Cholerastamm bildete dagegen auch bei dieser Versuchsanordnung Indol. Die Zersetzung des Tryptophans durch Bact. coli bleibt bei Anwesenheit von Traubenzucker nicht ganz aus, wenn sie auch gegenüber gleichen, aber zuckerfreien Kulturen wesentlich eingeschränkt erscheint; unser Coli-Stamm verbrauchte sogar in diesen Versuchsserien stets mehr Tryptophan als der indolbildende Choleravibrio.

Es erhob sich die Frage, ob durch den Zuckerzusatz vielleicht eine Aenderung im Stoffwechsel des Bact. coli in der Weise einträte, daß dasselbe nunmehr das eventuell gebildete Indol weiter zu verwenden vermöge. Wir haben daher untersucht, ob bei Anwesenheit von Zucker ein Indolverbrauch durch Bact. coli stattfinde. Das folgende Protokoll zeigt, daß dies nicht der Fall ist.

1) Ann. Inst. Pasteur. T. 6. p. 512.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nährlösung H, mit Zusatz von $^1/_2$ Proz. Trauben- resp. Milchzucker und 1 ccm 1-prom. Indollösung. Bebrütet 30 Stunden.

Bakterienart	Traubenzucker 0,5 Proz.		Milchzucker 0,5 Proz.	
	Indol	Reaktion	Indol	Reaktion
Kontrolle	0,96	neutral	0,96	neutral
Vibrio cholerae	0,01	„	0,92	„
Bact. coli	0,94	„	0,91	„
„ typhi	0,65	„	0,83	„
„ paratyphi	0,67	„	0,83	„

Wird anstatt einer Lösung von reinem Tryptophan eine Peptonlösung verwendet, so bleibt die Indolbildung bei Zusatz jedes beliebigen Zuckers vollständig aus. Hier decken sich unsere Befunde somit vollständig mit denjenigen Distasos.

Je 50 ccm Salzlösung H + 2,0 Peptonlösung werden mit $^1/_2$ Proz. verschiedener Zucker versetzt, zum Teil mit Coli infiziert, und nach 28-stündiger Bebrütung die Indol- und Tryptophanmenge bestimmt.

Zusätze	Reaktion	Tryptophan	Indol
Ohne Zucker, nicht infiziert	neutral	1,10 mg	0,0 mg
Ohne Zucker + Bact. coli	„	0,9 „	0,17 „
Traubenzucker, nicht infiziert	„	1,0 „	0,0 „
„ + Bact. coli	sauer	1,0 „	0,0 „
Milchzucker, nicht infiziert	neutral	1,1 „	0,0 „
„ + Bact. coli	sauer	1,0 „	0,0 „
Maltose, nicht infiziert	neutral	1,0 „	0,0 „
„ + Bact. coli	sauer	1,0 „	0,0 „

C. Verschiedene Zucker. Indolmenge quantitativ genau bestimmt.

Bact. coli in Nährmedium H_3, mit und ohne Zuckerzusatz ($^1/_2$ Proz.) 36 Stunden bebrütet.

Zusammensetzung des Milieus	Tryptophan-menge	Indol-menge	Reaktion
H + Tryptophan + Traubenzucker, $^1/_2$ Proz.	0,95 mg	0,0 mg	—
H + Tryptophan + Bact. coli	0,0 „	0,62 „	schw. sauer
H + Tryptophan + Traubenzucker + Bact. coli	1,0 „	0,00 „	„ „
H + Tryptophan + Milchzucker + Bact. coli	0,0 „	0,60 „	„ „
H + Tryptophan + Maltose + Bact. coli	0,0 „	0,58 „	„ „
H + Tryptophan + Saccharose + Bact. coli	0,0 „	0,62 „	„ „

Die Tabelle läßt erkennen, daß die Tryptophanzersetzung durch Milch-, Rohr- und Malz-Zucker nicht beeinflußt wurde, während auch in diesem Versuche Traubenzucker deutlich hemmte. Wiederholung des Versuches gab ähnliche Werte, nur daß Rohrzucker sich einmal wie Traubenzucker verhielt; dasselbe Ergebnis lieferte auch ein Versuch mit Lävulose und Isodulcit, während mit Mannit deutliche Indolbildung auftrat.

Die Ursache der hemmenden Wirkung bestimmter Zucker konnten wir nicht auffinden; doch sind wir der Ansicht, daß dieselbe auf einer tieferen Veränderung im Stoffwechsel der Bakterien beruhen muß. Die bisher von den meisten Untersuchern gegebene Erklärung, daß die Zucker als leichter angreifbare Nahrung von den Bakterien zuerst verwendet werde und daher das Tryptophan verschont bleibt, scheint uns

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

keine befriedigende Lösung des Problems zu sein, um so weniger, als sie voraussetzt, daß sich die N-freien Kohlehydrate und die N-haltigen Aminosäuren im Haushalt der Bakterien gegenseitig vertreten können.

Zusammenfassung.

1) Nicht nur die Indol-positiven Bakterien (Bact. coli, Vibrio cholerae) vermögen Tryptophan zu zersetzen, sondern auch die Indol-negativen Mikroorganismen (Typhusbacillen u. a.). Der Tryptophanverbrauch sinkt stark ab, wenn neben dieser Aminosäure noch andere Eiweißbausteine zugegen sind, wie dies z. B. in peptonhaltigen Nährböden der Fall ist. Da viele Bakterien durch peptolytische Wirkung Tryptophan aus höheren Verbindungen freimachen, und zwar in größerer Menge, als sie selbst verbrauchen können, so kann in solchen Kulturen gelegentlich eine Vermehrung des Tryptophans auftreten (Bact. coli, Bac. proteus u. a.). Andere Arten (Typhus-, Paratyphusbacillen) bewirkten dagegen stets eine Abnahme des Tryptophans, da ihr peptolytisches Vermögen so gering ist, daß der Verbrauch an Tryptophan die Produktion übersteigt.

2) Unter den Bakterien, welche in tryptophanhaltigen Nährböden kein Indol zu bilden vermögen, gibt es mehrere Arten (Typhus-, Paratyphus-Gruppe, Diphtheriebacillen), welche freies Indol verbrauchen können; die eigentlichen Indolbildner, aber auch viele Indol-negative, sind hierzu nicht befähigt.

Nachdruck verboten.

The influence of bacteria upon the development of tissues in vitro.

[Laboratory of Hygiene, University of Pennsylvania (Dr. A. C. Abbott, Director).]

By **Henry Field Smyth,** M. D., Dr. PH.,
Thomas A. Scott Fellow in Hygiene, 1912—1914.

With 1 plate.

The influence of bacteria upon the development of tissues in vitro.

The cultivation of tissue cells in vitro by the method of Harrison as modified by Burrows is finding a constantly increasing usefulness, and from a consideration of the method of growth and nutrition of the new cells in such cultures it seemed that they might be used themselves as culture media for various pathogenic bacteria, and so might throw new light on many bacteriological problems. The tissue cells obtain their proteid nourishment by digestion of the plasma with the formation of amino-acids and these acids are now recognized as all important bacterial foods. Also we have the opportunity hitherto lacking of

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

watching from day to day directly under the microscope the interaction of bacteria and living active tissue cells in homogenous or heterogenous plasma or artificial media which may be varied at will.

In pursuance of these ideas we began, in the fall of 1913, a series of observations which have been continued to the present and which it is intended to extend further in the future. The work is by no means complete but has advanced to such a condition that it is deemed advisable to report at this time some of the most constant and most suggestive findings. Pheiler and Lentz (1) report having studied the action of certain pathogenic bacteria on tissue cultures but we have been unable to find of their publishing any results. Our work so far has been with cultures of chick embryo and chicken adult tissues in chicken plasma, heart tissue being used most frequently because, in addition to growth, the presence or absence of pulsations were an added indication of harmful bacterial action. In studying the results it must be born in mind that besides the action of the tissue cells themselves and their metabolic products the natural bactericidal properties of the plasma may have a marked influence on bacterial survival and growth, as the work here to be reported will clearly show.

The organisms employed so far have been Bacterium diphtheriticum, pathogenic to chickens and man; the closely related non-pathogenic Bact. pseudodiphtheriticum; Micrococcus aureus, universally pathogenic; Bacillus typhosus, non-pathogenic to chickens but pathogenic to man; the related Bacillus coli verus, normal to chickens and man and not regularly pathogenic; and the non-pathogenic Bacillus prodigiosus. Also a series of tests have been made with diphtheria toxin and antitoxin on various tissues. The tissue cultures were of two types, small hanging block coverglass preparations inverted over deep-celled culture slides, and larger cultures containing numerous tissue fragments on the under surfaces of the covers of glass boxes varying in size from 4 to 6.35 cm in diameter. Cultures were made by the now familiar methods of Burrows (2) using fresh plasma or plasma stored on ice for varying times up to 23 days, all collected in iced paraffined glassware, and all cultures sealed with soft paraffin and incubated a 38° C, a compromise between the 37° bacterial and the 39° chick optimum. The box cultures had a layer of sterile water or saline solution in the bottom to prevent drying.

All cultures were observed once or more daily in the living state with a microscope kept in a warm box at 37° C, the large box cultures under low and the slide cultures under low and high powers, and records kept of any changes therein. The cultures were made in series and specimens were fixed daily for staining and permanent mounting. As fixatives formalin salt solution, Zenker and Flemming solutions were used, and as routine stains alum-hemotoxylin and eosin, and eosin and Unna's alkaline methyline blue. The slide cultures were stained and mounted direct, and the larger box cultures, after fixing and hardening were detached from the glass and embeded in celloidin and sectioned. Each type of culture has its own advantages and in this work it seems wise to work with both types together, as was done in most of the series quoted. In some instances results may differ somewhat, depending on the type of culture employed, as was seen especially with Bacterium pseudodiphtheriticum. The slide cultures are easier to manipulate,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

take less incubator room, can be observed under higher powers and stained in situ, but are dryer, have less oxygen supply and usually more tissue in proportion to plasma and therefore in proportion to any other substances added to the plasma, as toxins, bacteria etc., and the plasma is usually in a thinner layer, allowing wider spread of tissue growth (3). The plasma in these cultures was diluted with 1 part distilled water or Ringer's solution to 2 or 3 parts plasma. With each series of cultures studied there was always made a parallel series of normal controls in sterile plasma, and bacterial inoculations were made with and without tissue fragments.

Inoculations were made from bacterial suspensions, with straight platinum needles, on the surface of solidified active cultures at different intervals after planting, or into the dilute plasma just before, or from 1 to 4 days before planting, using a small platinum loop. In the latter cases any bactericidal influence of the plasma was operative, while in the former the bactericidal powers were usually destroyed by incubation before the inoculations were made.

Without giving detailed tables the following observations on the organisms studied are reported.

Bacillus typhosus.

Unfortunately but one strain of this organism, that of Wyatt Johnston, was available for this work, but the results will be controlled later on other strains. Inoculations into sterile plasma before culturing, either with or without tissue fragments, no matter how heavy the inoculations might be, never in a single instance out of 84 cultures resulted in any evidence of growth of the organisms, and usually the tissue cultures appeared somewhat more extensive and vigorous than did the sterile controls. This latter fact led to the use of vaccines, or suspensions of killed organisms in saline solution, as diluents for the plasma and in a total of 22 cultures of embryonal heart and splenic tissue the growth and migration of new cells invariably markedly exceeded that in normal controls. The vaccines for these tests were killed at 60° to 65° C, and very heavy suspensions were used but no accurate measurements of dosage were made. These tests will be repeated with vaccines killed at varying temperatures and with accurate measurements of dilution of cultures and controls. The vaccine tests were compared not only with normal controls but with vaccines of other organisms the results of which will be given later.

Inoculations on solidified plasma without tissue after 48 hours incubation resulted in 3 instances in no growth and in 4 in a light spreading growth distinctly less than on similar cultures containing tissue fragments.

Inoculations on solidified plasma containing actively growing tissue fragments, as soon as solidified, and in 5 hours after solidifying, resulted in no growth; similar inoculations after 24 hours showed light spreading growth; and inoculations after 48 hours, 45 in all, invariably resulted in heavy spreading growths with especial affinity for the tissue fragments. The tissue however remained active and the heart fragments pulsated for 24 to 48 hours after the typhoid growth reached them (in contrast to the cultures so treated with Bacterium diphtheriticum) apparently only being killed by the mechanical overcrowding with bacilli and the

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:32 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

appropriation by the more active bacilli of the available nourishment. Sections of such cultures after 3 or 4 days involvment with bacilli showed a curious clustering of organisms over the surface of the new cells obscuring the cellular outline and structure and giving the appearance seen in the accompanying figure (fig. 1) suggestive of old dead trees heavily vine clad, and called by the author "bacterial trees". With no other pathogenic organisms was this appearance so clearly marked, although in one accidental infection with a long rod shaped bacillus, probably of the subtilis group, it was beautifully shown. These "bacterial trees" appeared much sooner when inoculations were made on cultures 5 days old which were already showing retrograde changes and in which growth had become sluggish.

In one instance only was it possible to overcome the bactericidal influence of fresh plasma and so obtain colony growth of typhoid organisms, and then only in one of six cultures so treated. In this series the moist tissue fragments were covered with a heavy bacillary suspension several minutes before the plasma was added, giving an extremely heavy dose of organisms in proportion to the amount of plasma used. To determine if the presence of a soluble toxin might overcome the inhibition and allow of growth of B. typhosus plasma was treated with diphtheria toxin before inoculation, but results were still negative. As Thiele and Embleton (4) claim that inoculations from hypertonic media may render some ordinarily non-pathogenic organisms, as Bacillus prodigiosus, pathogenic and allow them to survive the bactericidal action of plasma Bacillus typhosus was grown in bouillon containing 3 % NaCl and inoculations made from that with like negative results. The foregoing results bring out the following points: Bacillus typhosus, non-pathogenic to chickens, will not grow in fresh chicken plasma with or without the presence of tissue, the plasma being strongly bactericidal for this organism. The bactericidal properties of the plasma being destroyed by incubation, Bacillus typhosus will then grow freely with a special affinity for the new cells and a tendency to cling to them for support, but even then it does not seem to exert any decided toxic action on the cells. Typhoid vaccines would seem to have a decided stimulating action on connective and lymphatic tissue growth.

Bacillus coli verus.

Here we are dealing with an universaly present though usually non-pathogenic organism and, as might be expected, the plasma seems to have only a slight bactericidal influence. In every instance where this bacillus was employed colonies appeared scattered generally throughout the plasma where inoculations were fairly heavy, whether tissue was present or not; and the presence of tissue fragments of no matter what type seemed to have no influence favorable or otherwise on the growth of the bacilli or location of the colonies. Where the inoculation was light only an occasional colony developed and tissue growth was uninfluenced, or possibly stimulated as with Bacillus typhosus, and where the inoculation was heavy and the colonies numerous the new tissue growth was lessened or absent, probably due to appropriation of nourishment by the bacilii. Coli verus vaccine, employed in 25 cultures, appeared to have an undoubted stimulating action on connective tissue

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

growth thouth not to so marked a degree nor manifested quite so early as with typhoid vaccine. For reasons to be explained below the effect of embryonal splenic extract on tissue cultures inoculated with Bacillus coli verus was tried, the extract being dropped on the surface of the freshly solidified plasma, and in the few cultures so treated there was little or no development of colon colonies in the area covered by the extract. The extract used in these and subsequent tests was an unfiltered concentrated extract of splenic pulp from 14 day embryos, stored on ice for about 2 weeks before use.

Micrococcus aureus.

Here we have an almost universally present and universally pathogenic organism directly attacking tissue cells. In every culture made either with or without tissue there was an extremely heavy generally distributed growth of aureus colonies, and where tissue was present there was very scanty or absolutely no new growth, except with splenic tissue which always showed some migrating cells and a clear halo around the tissue fragment of plasma free or nearly free from bacterial colonies. This bacteria free area was nearly co-extensive with the range of migration of the white cells from the tissue, and the observing of these areas around splenic fragments was what led to the use of splenic extract, as employed by Carrel (5) to stimulate growth. Embryonic splenic extract on aureus cultures showed a very marked bactericidal action, proving that the halos around splenic tissue in cultures were not entirely due to phagocytosis, but rather to the action of some cell product acting on the organisms. Cultures of liver tissue inoculated with Micrococcus aureus showed the same clear halos though not as extensive, due no doubt to the smaller number of lymphatic cells in the tissue. Adult spleen and liver tissue showed the same phenomenon except in one series where the adult tissues failed to grow. The contrast between the reaction to splenic tissue and to tissue not rich in lymphatic elements was well seen in cultures containing both spleen and heart tissue, the former being entirely free from bacterial colonies and the latter being closely surrounded and invested with them and even seeming to encourage their growth (see fig. 2). Aureus-vaccine seemed to have an inhibitory action on cell growth, though usually not completely arresting the same.

Bacillus prodigiosus.

This organism was used in a few tests as an example of an ordinarily non-pathogenic bacillus with no toxin production. It failed absolutely to grow in plasma without tissue and usually also failed to grow in the presence of tissue, though in a few cultures there were 2 or 3 discrete colonies. However, when inoculations were made from cultures in hypertonic bouillon (3 % NaCl) they invariably grow in moderate numbers, a probable indication of their pathogenicity under such conditions, though this was not tested. Prodigiosus-vaccine produced no appreciable effect on tissue growth.

Bacterium diphtheriticum.

This organism, pathogenic to chickens and man, producing strictly localized lesions and a soluble toxin which is a direct cell poison with especial affinity for nervous tissue, produced the most striking results

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in tissue cultures. Inoculations into liquid plasma without tissue failed to grow except when very heavy, sufficient to more than use up all the bactericidal substances present. Even when a moderate number of bacteria survived bacteriolysis they failed to grow except in the presence of tissue fragments, as shown when cultures were made from plasma inoculated 24 hours previously and from the same plasma 3 days later. In the latter case much fewer colonies developed and they interfered not at all or only very slightly with tissue growth. When inoculations were very heavy colonies developed through the entire medium, but when moderate or light the colonies were always clustered around the tissue fragments and never in clear plasma away from tissue (see fig. 3) so that in a culture containing 4 or 5 fragments the appearance would be that of 4 or 5 solar systems, the tissue fragments being the centres of the systems. This was a very striking picture and never seen with other organisms, except occasionally under certain conditions to be stated later with Bacterium pseudodiphtheriticum. The diphtheria organisms, except when in overwhelming numbers, seemed to depend on some product of tissue growth to enable them to develope in the plasma, and that is probably why in diphtheria infections we find them strictly localized and rarely find a bacteriamia except in pre-agonal conditions when the plasma has lost its protective powers. Even when inoculations were very light some colonies were always to be found in the neighborhood of tissue fragments, and this held true of all tissues tried. With spleen however, they did not come in immediate contact with the tissue cells, as with other tissues, but clustered just beyond the reach of the migrating lymphatic cells, giving an even truer picture of a solar system than with other tissues (see fig. 4). One culture from 7 day splenic tissue, showing practically no migration of lymphatic elements but merely connective cell growth, did not show this bacteria free halo. Liver tissue seemed to have no inhibitory influence on Bacterium diphtheriticum, as it did with Micrococcus aureus. When colonies were few very little or no deliterious effect on tissue growth was seen, but as their number increased the amount and vigor of the new cell growth decreased until with a very heavy infection there was only a scant growth of shrivelled cells with dense non-active nuclei, and no new cells appeared after the first 24 to 48 hours. The few new cells seemed to feel a double influence, that of toxin action and of deprivation of nourishment, as they were more shrivelled and contained less fat droplets than the cells acted on by toxin alone, as will be shown below. With a moderately heavy infection, after 48 hours the tissue seemed to overcome to some extent the effect of the bacterial action and to take on a more active growth, though not as active as normal. This was probably due to the cells having produced sufficient antitoxin to neutralize the toxin of the bacillary colonies. Cultures of brain tissue were inhibited earlier and by lighter colony growth than was the case with any other tissue, and heart fragments as a rule pulsated only about half as long as those of normal cultures in their series. The bactericidal action of plasma against diphtheria was not strong enough to prevent growth when freshly solidified tissue cultures were inoculated before placing in the incubator, when there was a light surface growth, whereas with Bacillus typhosus and Bacterium pseudodiphtheriticum under similar conditions there was no growth except when cultures had been incubated at least 12 hours before in-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

oculating. With cultures inoculated after incubation tissue growth and heart pulsation are arrested within 12 hours or less after involvment of the tissue fragment by the bacterial growth, whereas with typhosus activity continued for 24 to 48 hours or more after tissue involvment. Previous treatment of plasma with antitoxin did not materially influence bacterial growth, but it did permit of more vigorous tissue growth in the presence of heavy bacterial infection. Addition of sufficient toxin to the plasma to entirely arrest tissue growth lessened decidedly the amount of bacterial growth, showing that the bacteria depend on products of active tissue growth rather than the mere presence of tissue cells. As a rule the younger the embryo from which the tissue was taken the less tissue growth was inhibited by the bacillary growth. Embryonal splenic extract applied as with aureus cultures had a decided inhibitory action on the development of diphtheria colonies. The action of diphtheria toxin and antitoxin will be considered in more detail after that of Bacterium pseudodiphtheriticum. Three different strains of Bacterium diphtheriticum were used in these tests, two freshly isolated and proved virulent by guinea-pig tests, and the third the Parke-Williams Bacillus 8 obtained from Dr. A. H. Stewart of the Philadelphia Antitoxin Laboratories. This last organism gave much scantier growth on tissue, as it does on other media.

Bacterium pseudodiphtheriticum.

The organism used for these tests was of the Hoffman type, one used regularly in class work at the University of Pennsylvania. This organism failed to grow in a single instance in plasma without tissue, though it survived for 4 days in liquid plasma and grew on agar slants made from this plasma. In only 3 out of 14 tests did it grow in the presence of tissues in the larger box cultures but in small slide cultures, with thinner plasma film, less moisture and more tissue in proportion to plasma it grew in most of the tests. When it did develope the colonies were scattered and not grooped about the tissue as with Bacterium diphtheriticum and evidently represented only a small fraction of the organisms inoculated. When inoculated from hypertonic bouillon (3 % NaCl) however in developed in 100 % of the tests. When colonies did develope in tissue cultures they seemed to have no deleterious influence on tissue growth or heart tissue pulsations. This was especially well seen in one series where the tissue was covered with a very heavy suspension of bacteria before adding the plasma. Here the bacterial colonies developed in great numbers around and over the tissues, in spite of which the tissues grew well and pulsated actively, the new cells appearing nearly normal, in contradistinction to a similar culture with Bacterium diphtheriticum where the bacterial growth was even more vigorous but the tissue growth extremely scanty with shrivelled cells and dark inactive nuclei and no pulsations. As the closely related true diphtheria organism grew well in the presence of tissue, tests were made with Bacterium pseudodiphtheriticum in plasma with diphtheria toxin in sufficient dose to lessen but not to prevent tissue growth and in these tests the bacterial colonies grew just as does the true diphtheria organism, clustered around the tissue fragments and failing to grow without tissue and leaving clear bacteria-free halos around splenic fragments, the toxin apparently protecting the bacteria from

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bacteriolysis and possibly also assisting in some way in its obtaining nourishment from the cells. Antitoxin in the plasma has no effect on bacterial growth. Bacterium pseudodiphtheriticum failed to grow in plasma with toxin but without tissue, showing that tissue products are essential to its development in these cultures.

Diphtheria toxin.

Three lots of toxin were used in these tests, one from the Philadelphia Antitoxin Laboratories, one from the H. K. Mulford Laboratories, both obtained without preservatives, and one from the Philadelphia City Bacteriological Laboratories but originally from the New York City supply. All gave the same results. The toxin was added in varying amounts to the plasma before making cultures. As the tissue fragments were so minute no definite calculations could be made as to the relative dose of toxin to tissue, but in most cases the dosage of toxin to plasma was figured. With all toxins used the chick tissues seemed to have a much higher resistance than do guinea-pig tissues, as the normal L + dose calculated for the amount of plasma in the culture had little effect on any but nervous tissue. Without going into detail of the 131 toxin tests employed the results may be summarized as follows:

In small doses diphtheria toxin has little or no influence on chick tissue cultures. In moderate doses it checks tissue growth and lessens heart tissue pulsations both in volume and duration in proportion to the increase in dosage, massive doses absolutely preventing growth and pulsation and migration from splenic fragments. Growth of nervous tissue is arrested by smaller doses than those for any other tissue employed, the multiplication of cells being arrested by smaller doses than the growth of fibres from individual cells. Growth of heart tissue persists with decidedly heavier doses than does that of other tissues. With all tissues it was noted that with doses sufficient to arrest growth but not to kill growth and activity might be resumed after 24 to 48 hours, probably due to the production of antitoxin by the cells in the original tissue fragments.

Tissue cultures treated with antitoxin at the same time or immediately after the toxin made a normal or nearly normal growth. New cells from heart cultures treated with heavy doses of toxin showed advanced degeneration, heavy accumulation of fat droplets, blunted processes and dense inactive or fragmented nuclei (see fig. 5 and compare with fig. 6).

This gives an outline of the work to date, there having been made 355 inoculations in plasma before planting, 89 inoculations on solidified active tissue cultures, 115 vaccine and 166 toxin and antitoxin treated cultures and 438 normal tissue culture controls. In numerous instances where organisms failed to grow in plasma cultures controls were made from the same inoculated plasma streaked on agar slants to prove that the inoculations in plasma were positive. We consider the work on these lines just begun and hope to be able to continue it, confirming the tests with other strains of the same organisms, employing other members of the same groups for comparison, and taking up the consideration of other groups of pathogenic organisms. Also tests should be made with other tissues and plasmas, always bearing in mind the known pathogenicity of organism for animal and tissue used. We hope to be able to grow on these cultures some of the more strictly parasitic bacteria, as other

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

strict parasites have been grown by other workers, as poliomyelitis by Levaditi (6), vaccina by Steinhardt, Israeli and Lambert (7) and rabies by V. H. Moon (8). By comparative studies with various types of cells and various natural and artificial media clearer ideas as to the exact role of cell and plasma in antibody production, elaborating on the methods of Carrel and Ingebrigsten (9), Lüdke (10), Przygode (11) and others should be possible.

Summary.

Bactericidal action of chicken plasma as demonstrated by the above methods:

On Bacillus typhosus: Very strong — never grows in plasma alone.

On Bacillus prodigiosus: Very strong — never grows in plasma alone.

On Bacterium pseudodiphtheriticum: Strong; slight growth in small cultures only.

On Bacterium diphtheriticum: Moderate.

On Bacillus coli verus: Slight.

On Micrococcus aureus: Very slight or none.

Few Bacterium pseudodiphtheriticum and more Bacterium diphtheriticum survived in plasma stored in the cold for 4 days. The presence of growing tissue overcomes the bactericidal influence of plasma on Bacterium diphtheriticum, and in some instances on Bacterium pseudodiphtheriticum.

Bacterium diphtheriticum grows in plasma without tissue only if inoculations are very heavy; and very heavy inoculations of all organisms will probably overcome bactericidal action of plasma as it is undoubtedly a quantative reaction. The bactericidal influence of plasma is overcome by exposure to incubator temperature for 24 to 48 hours.

Behavior of Bacillus typhosus in chick tissue cultures: except with extremely heavy inoculations Bacillus typhosus will not grow in tissue cultures in chicken plasma, unless bactericidal substances have been dystroyed by 24 to 48 hours incubation. Under latter conditions it grows freely with especial affinity for the tissue cells, but appears to have no toxic action on the same, stopping tissue growth by mechanical crowding and appropriation of nourishment.

Behavior of Bacillus coli verus in chick tissue cultures: Bacillus coli verus always grows freely with or without the presence of tissue and is little if any influenced by the tissue growth. If inoculations are heavy it materially lessens tissue growth. Note the very sharp disistinction between Bacillus typhosus and Bacillus coli verus; if other strains show corresponding results we have here a clear means of differentiation.

Behavior of Bacillus prodigiosus in chick tissue cultures: this organism under ordinary conditions, as would be expected from its non-pathogenicity, usually refuses to grow in chick tissue cultures in chicken plasma, but by inoculation from hypertonic solution it may be made to grow fairly freely. So grown it does not seem to influence tissue growth.

Behavior of Bacterium diphtheriticum in chick tissue cultures: Bacterium diphtheriticum grows in these tissue cultures

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

only in clusters around tissue fragments and never in plasma without tissue, except where inoculations are very heavy. Growth of this organism has a decided inhibitory influence on tissue activity and growth, especially marked with nervous tissue, but this action may be checked by the addition of antitoxin to the plasma. Cultures inhibited by diphtheria growth have a tendency to resume growth later, probably due to antitoxin production. Older embryo tissues are more harmed than are younger. Active splenic tissue arrests growth of this organism in its immediate vicinity, but liver tissue does not.

Behavior of Bacterium pseudodiphtheriticum in chick tissue cultures: this organism is distinctly less active in tissue cultures than is Bacterium diphtheriticum and never grows in chicken plasma without tissue. The presence of diphtheria toxin in plasma-tissue cultures encourages growth of Bacterium pseudodiphtheriticum. Its growth has little or no direct influence on tissue growth.

Behavior of Micrococcus aureus in chick tissue cultures: Microccus aureus grows freely in these cultures with or without tissue and is very depressent to tissue growth, but less so to that of splenic tissue which inhibits bacterial growth in its immediate vicinity, due to phagacytosis and the action of some product of lymphatic cell metabolism. Liver tissue has the same action to a less degree.

Action of diphtheria toxin on chick tissue cultures: diphtheria toxin has a quantatively inhibiting action on all tissue growth and on heart tissue pulsatioss, the action being greatest on nervous tissue and least on heart tissue growth. If the dose is not too heavy tissues recover activity in 24 to 48 hours, due to antitoxin production. Antitoxin prevents or lessens the deleterious action of toxin.

Effect of splenic tissue and embryonal splenic extract on bacterial growth in chick tissue cultures: splenic tissue has no effect on the growth of Bacillus coli verus, but embryonal splenic extract seems to have some bactericidal action. Splenic tissue has decided bactericidal action on Bacterium diphtheriticum and Micrococcus aureus, probably due to lymphatic cells and cell products, as seen by area of cell migration coinciding with bacteria-free area, and by failure of such action in cultures of very young spleen showing no lymphatic cells. Embryonal splenic extract has marked bactericidal action on the same organisms.

Effect of bacterial vaccines on tissue growth:

Prodigiosus vaccine — no apparent action.
Diphtheria vaccine — no apparent action.
Aureus vaccine — some degree of inhibition.
Coli verus vaccine — stimulation.
Typhosus vaccine — marked stimulation.

Conclusions.

From the above work the author has drawn the following conclusions:

1) We have in tissue cultures in vitro a valuable addition to our methods of bacteriological study.

2) The reaction of bacteria to tissue culture would seem to be more or less parallel to the pathogenicity of organism for animal from which tissue is taken.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3) This method would seem to offer a reliable means of differentiating between pathogenic and non-pathogenic organisms of the same species; as with B. typhosus and B. coli verus, and the diphtheria group organisms.

4) It will probably shed more light on the protective action of tissue cells and cell products against bacterial action, as is seen in the results with splenic preparations.

5) It will probably explain more clearly the action of pathogenic bacteria and the definite relation they bear to the tissues involved and to the blood plasma, as is seen from the peculiar behavior of Bacterium diphtheriticum in tissue cultures.

In conclusion let it be once more fully understood that the work is presented not as a completed research, but rather as opening up certain promising vistas for subsequent research.

References.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. 1913. p. 122.
2) Journ. of the Amer. Med. Assoc. Vol. 62. May 2. 1914.
3) Transact. Congr. Amer. Physic. and Surg. IX. 1913. p. 77.
4) Zeitschr. Immunitätsforsch. Abt. I. Bd. 19. 1913. p. 643.
5) Journ. of experim. Med. Vol. 17. Jan. 1913.
6) Compt. rend. Soc. de Biol. Vol. 74. 1913. p. 1179; Vol. 75. 1913. p. 202.
7) Journ. of Infect. Dis. Febr. 9. 1913. p. 294.
8) Journ. of Infect. Dis. 1913. p. 232.
9) Journ. of experim. Med. Vol. 15. 1912. p. 287.
10) Berlin. klin. Wochenschr. 1912. p. 1034.
11) Wien. klin. Wochenschr. 1913. p. 84.

Explanation of figures.

H. Heart fragment
C. New cell growth
B. Bacterial colonies
F. Degenerated nuclei
S. Splenic fragment
T. Bacteria laden cells
N. Normal nuclei

Figure I. × 60.

84. B. 5. Section of 7 day culture of heart tissue from 11 day chick embryo, inoculated with Bacillus typhosus on 5th day. New cell growth heavily invested with bacilli ("Bacillary Trees") with few or no bacilli between cells.

Figure II. × 30.

157. B. 1, 3. One day culture of heart and splenic tissue from 12 day chick embryo: plasma inoculated with Micrococcus aureus before planting. Very limited tissue growth with bacteria free halo around splenic tissue only.

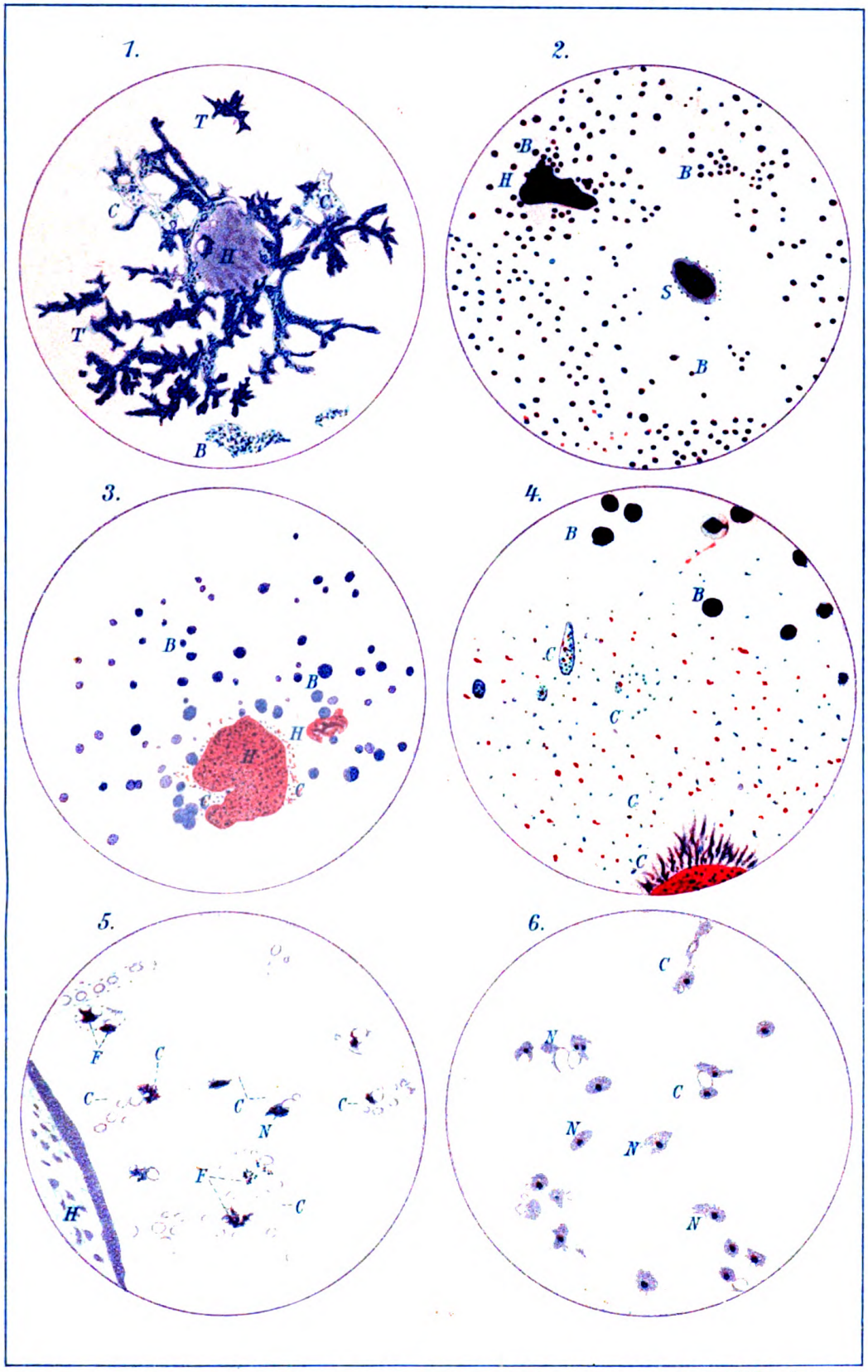
Figure III. × 30.

90. B. 1. Section of one day culture of heart tissue of 9 day chick embryo: plasma inoculated with Bacterium diphtheriticum before planting. Diphtheria colonies clustered around tissue, with very little new tissue cell growth.

Figure IV. × 30.

228. s. 3. 2 day culture of splenic tissue from 13 day chick embryo: plasma inoculated with Bacterium diphtheriticum before planting. Growth and migration of splenic cells and bacteria-free halo around tissue.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Verlag von Gustav Fischer in Jena. P. Weise, Lith. Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Figure V. ×300.

123. s. 1. New cells from 4 day culture of heart-tissue from 7 day chick embryo in plasma plus diphtheria toxin. Few cells, marked vacuolation and nuclei degenerating or fragmented.

Figure VI. ×300.

124. 3, 1. New cells from 4 day cultures of heart tissue from 7 day chick embryo (same as 123) in plasma plus diphtheria toxin and antitoxin. Normal or nearly normal cells.

Note: Drawings are given in preference to photographs where the cells and colonies in the preparation cannot be focused all or nearly all on the same plane.

Nachdruck verboten.

Zur Variation des Choleravirus.

[Aus dem Hygienischen Institute zu Stockholm.]

Von Dr. **P. G. Olsson.**

1. Einführung.

Eine sehr auffallende Eigentümlichkeit der Choleraseuche ist ihre Eigenschaft, zumeist im Herbst oder im Spätsommer aufzutreten. Die Ursache dieser, seit alter Zeit beobachteten Tatsache ist noch nicht bekannt. Ebensowenig ist die Ursache der zuerst von Robert Koch gefundenen Tatsache, daß die durch Wasser übertragene Ansteckung gegenüber einer durch Kontakt zugezogenen viel schwererer Art sein kann[1]). Koch hält es für verdienstvoll, die Ursache dieser Erscheinung aufzuklären. Da also die wichtigsten Fragen bezüglich der Choleraätiologie noch offen sind, so hielt ich es für berechtigt und nützlich, die Variation, die Biologie und Virulenz der Cholerabakterien zu untersuchen.

Im Frühling 1910 nahm ich einige orientierende Untersuchungen vor, um zu ermitteln, inwiefern das Choleravirus bei Züchtung in nahrungsarmen Nährböden bei niedrigerer Temperatur irgendeine Aenderung in seiner Biologie und Virulenz erleide. Ich impfte teils Dünger, teils Algenschlamm mit Cholerastämmen aus der Petersburger Epidemie von 1908 und stellte die Algenschlamm- und Düngerkulturen in den Panumschen Thermostaten bei 25, 20, 18, 16 und 14°.

Als ich aus einer Düngerkultur, die 4 Monate lang ohne Ueberimpfung auf frischen Nährboden bei 18° gestanden hatte, in gewöhnlichen, dünnen Agarplattenkulturen herausgezüchtet hatte, die etwa 20 Stunden bei 37° gewachsen und dann bei Zimmertemperatur 8 Tage stehen gelassen waren, fand ich eine geringe Anzahl von Kolonieen auf, die auffallend gegen die anderen abstachen.

Die ganze Oberfläche dieser Kolonieen war mit eigentümlich geformten Kämmen versehen, welche mehr oder weniger tiefe Furchen trennten, was den Kolonieen ein charakteristisches gerunzeltes Aussehen gab. Der Rand der Kolonie war unregelmäßig buchtig, die Farbe auffallend bräunlich; im durchfallenden Lichte waren die Kolonieen völlig

---

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 15.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

undurchsichtig; die Konsistenz war ungewöhnlich fest. Es erwies sich als unmöglich, diese Kolonieen in Bouillon oder Wasser völlig zu emulgieren; sie zerfielen dabei zum großen Teil in größere und kleinere Klümpchen. Die betreffenden Bakterien waren unbeweglich und zeigten sich in der nächsten Zeit bei fortgesetzter Kultur in Agar sowie auch bei Meerschweinchenpassagen in den gefundenen neuen Merkmalen konstant. Das veränderte Bakterium verflüssigte Gelatine, gab prachtvolle Rotreaktion und hatte den eigentümlichen Geruch der Cholerabakterien, gab aber ein kaum wahrnehmbares Häutchen auf Bouillon.

Die Untersuchungen wurden im Jahre 1911 wieder aufgenommen, hauptsächlich mit einer Petersburger Kultur, die ich C^8a nenne. Die tödliche Dosis betrug 2—3 Oesen gegenüber Meerschweinchen von 200 g.

Technik und Terminologie.

Der Dünger stammte von Rindermist, der zu Kompost verarbeitet war und eine schwarze, humusähnliche Masse bildete. Diese wurde zermalmt und mit einem nahezu gleichen Volumen Wasser übergossen und zuletzt $^1/_2$ Stunde bei 120° keimfrei gemacht. Dieser Dünger war neutral.

Algenschlamm erhielt ich mit Sand vermischt vom Stockholmer Wasserwerk; es war die bei der Reinigung der Wasserfilter abgehobene Masse. Die gleiche Gewichtsmenge Wasser wurde zugesetzt und $^1/_2$ Stunde auf 120° erhitzt.

Ich habe es für vorteilhaft gehalten, in dieser Abhandlung folgende Terminologie einzuführen:

1. Bakterie: α-Bakterium = das normale Choleraspirillum;

β-Bakterium = völlig unbeweglich, von der Größe des normalen Choleraspirillums, kann gerunzelt oder typisch wachsen.

2. Kolonie: A-Kolonie = normale, typische Cholerakolonie auf Agar, leicht aufzuschwemmen;

AB-Kolonie; dieselbe hat 3 Entwickelungsstufen:

AB^I-Kolonie = A-Kolonie mit schließlich auftretendem dammförmigen oder perlenschnurähnlich erhöhten Rand;

AB^{II}-Kolonie = Zwischenstufe zwischen der vorhergehenden und der nachfolgenden Form;

AB^{III}-Kolonie = A-Kolonie, deren ganze Oberfläche schließlich mit Balkenwerk überzogen, d. h. gerunzelt ist;

B-Kolonie = eine primär gerunzelt wachsende Kolonie;

BA-Kolonie = gerunzelt wachsende Kolonie, die zuletzt von glatten, typischen Vegetationen ganz oder teilweise umgeben wird.

3. BA-Vegetation = eine ebene, flache Vegetation, die von einer gerunzelten Kultur oder Kolonie herauswächst und diese mehr oder weniger kreisförmig umgibt. Die Bakterien sind leicht aufzuschwemmen und völlig unbeweglich. Durch angemessene, langwierige Züchtung kann das Bakterium seine Beweglichkeit wiedergewinnen.

Variationen bei dem Choleraspirillum haben mehrere Verfasser beobachtet und darüber berichtet. Friedrich, Kruse, Kolle, Baerthlein und Eisenberg haben besonders die verschiedenen Kolonieenformen gut beschrieben und abgebildet, so daß ich insofern nichts Neues hinzuzufügen habe. Dagegen ist der genetische Zusammenhang derselben

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Formen weniger beobachtet worden, und die Deutung der gefundenen Variation ist deshalb manchmal zu subjektiv gewesen. Da ich gefunden habe, daß in den betreffenden Variationen eine zyklische Entwickelung vor sich gehen kann, so referiere ich die nach meiner Meinung ungenügend gestützten Behauptungen einer Mutation hier nicht.

Eine sicher konstatierte Mutation habe ich nicht angetroffen. Dagegen waren mehrere der von mir genau studierten Formen zäh konstant; sie konnten es monatelang bleiben und Tierpassagen überstehen, gingen jedoch bei einer gewissen fortgesetzten Kultur in andere Formen über. Hier liegt diejenige Erblichkeit vor, die Almquist relative Erblichkeit nennt. Dagegen muß, soviel ich verstehen kann, der Begriff Mutation denjenigen Varianten vorbehalten bleiben, die jahrelang in jedem Milieu unveränderlich bleiben. Sichere Mutation ist unter den Bakterien, soviel ich weiß, überhaupt nie konstatiert worden. Bevor der Vorgang näher studiert ist, kann natürlicherweise die Begrenzung und Definition des Begriffes Mutation unmöglich vorgenommen werden.

2. Untersuchungen über den Stamm C^8a.

Sukzessive Veränderung des Cholerabakteriums bei Züchtung im Dünger und Einfluß des Milieus auf die Kolonieenform.

Das für die Untersuchung in Tabelle I benutzte Bakterium war von einer $2^1/_2$-monatigen Düngerkultur des Stammes C^8a gewonnen worden. Es wies auf frischer, ca. 4 mm dicker Agarplatte bei 18° eine typische, aber bei 16° gerunzelte (atypische) Wachstumsform auf. Das Bakterium wurde durch 3mal wiederholtes Plattengießen reinkultiviert. Dann wurde Düngerextrakt mit einer recht großen Menge des reingezüchteten Bakteriums versetzt und bei 20° aufbewahrt.

Die Tabelle I zeigt die allmähliche Veränderung des Stammes bei Züchtung in Dünger.

Alle 8 Tage wurden nach vorhergehendem Umschütteln des Düngers Agarkulturen gemacht, und zwar wurden jedesmal sowohl frische (Reihe I) wie 2 Tage bei Zimmertemperatur ausgetrocknete (Reihe II) Platten von ca. 4 mm Dicke verwendet. Die Kulturen wurden zuerst bei 37° 18—20 Stunden aufgestellt. Nach dieser Zeit beobachtete ich die Kolonieenform, und fand diese in allen Versuchen der Tabelle typisch. Darauf wurden Kulturen (von womöglich weniger als 100 Kolonieen) 7 Tage bei Temperaturen von 16, 18, 20, 25 und 37° aufgestellt. Nach Ablauf dieser Frist beobachtete ich die Kolonieenform sowohl makro- und mikroskopisch wieder.

Aus Tabelle I ersehen wir z. B. im Versuch V, daß die nach 20 Stunden bei 37° entfaltete A-Kultur bei 20° sich zur AB-Kultur entwickelte. So verhielten sich auch die Kulturen bei 18 und 16°. Dagegen veränderten sich dieselben Kulturen nicht bei 25 und 37°. So finden wir die Versuchsreihen hindurch, daß, wenn in einem Versuche die Kultur sich bei gewisser Temperatur als AB-Kultur entwickelte, auch die Kulturen, welche bei den niedrigeren Temperaturgraden gezüchtet wurden, in AB-Kulturen übergingen. Andererseits ersehen wir, daß, wenn in einem Versuche die Kultur bei einer Temperatur typisch blieb, auch die bei den höheren Temperaturen aufbewahrten Kulturen typisch blieben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.
Sukzessive Veränderung des C^8a bei Züchtung in Dünger.

No.	Alter der Düngerkultur Wochen	Plattenkulturen			No.	Alter der Düngerkultur Wochen	Plattenkulturen		
		Temperatur	Typus nach 7 Tagen				Temperatur	Typus nach 7 Tagen	
			Platten feucht	Platten trocken				Platten feucht	Platten trocken
I	1	16°	ABI	ABI	VIII	8	16°	ABI	ABI
		18°	A	ABII			18°	ABII	ABII
		20°	A	A			20°	ABIII	ABII
		25°	A	A			25°	ABIII	ABIII
		37°	A	A			37°	A	A
II	2	16°	ABI	ABI	IX	9	16°	ABI	ABI
		18°	A	ABII			18°	ABII	ABI
		20°	A	A			20°	ABIII	ABIII
		25°	A	A			25°	ABIII	ABII
		37°	A	A			37°	A	A
III	3	16°	ABI	ABI	X	10	16°	ABI	ABI
		18°	ABII	ABII			18°	ABI	ABII
		20°	A	ABIII			20°	ABIII	ABIII
		25°	A	A			25°	ABIII	ABII
		37°	A	A			37°	A	ABII
IV	4	16°	ABI	ABI	XI	11	16°	ABI	
		18°	ABII	ABI			18°	ABII	
		20°	A	ABIII			20°	ABIII	
		25°	A	A			25°	ABIII	
		37°	A	A			37°	A	
V	5	16°	ABI	ABI	XII	12	25°	ABIII	
		18°	ABII	ABII			37°	A	
		20°	ABII	ABIII					
		25°	A	A	XIII	13	25°	ABIII	
		37°	A	A			37°	A	
VI	6	16°	ABI	ABI	XIV	14	25°	ABIII	
		18°	ABII	ABII			37°	ABI	
		20°	ABIII	ABIII					
		25°	A	A	XV	15	25°	ABIII	
		37°	A	A			37°	ABII	
VII	7	16°	ABI	ABI					
		18°	ABIII	ABII					
		20°	ABIII	ABIII					
		25°	A	ABII					
		37°	A	A					

Die Temperatur hat also einen entscheidenden Einfluß auf die Wucherungsart des Bakteriums ausgeübt.

Weiter ergibt sich, daß, je länger das Bakterium im Dünger gezüchtet wurde, desto höher hinauf auf der Temperaturskala wir die höchste Temperatur finden, bei welcher das Bakterium gerunzelt keimte. Das Bakterium hat durch die Züchtung im Dünger eine sukzessive biologische Aenderung durchgemacht, welche sich dadurch kundgibt, daß es bei nachfolgender Züchtung auf Agar bei immer höherer Temperatur gerunzelt gewachsen ist.

Beim Vergleiche zwischen den beiden Versuchsreihen in Tabelle I ergibt sich, daß ein Bakterium, welches auf frischem Agar typisch keimt, unter sonst gleichen Versuchsbedingungen auf trockenem Agar eine gerunzelte Wachstumsart aufweisen kann.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Durch einen anderen Versuch hat sich ergeben, daß die Menge des Nährbodens einen ganz bestimmten Einfluß ausüben kann, ob die Kolonieenform typisch oder gerunzelt ist. Während eine Kultur mit weniger als 100 Kolonieen in einer Platte mit 4 mm hoher Agarschicht sich nach 8 Tagen zur AB^{I}-Kultur entwickelt hatte, hatte eine andere aus derselben Ausgangskultur mit weniger als 100 Kolonieen bei derselben Temperatur und nach derselben Zeit (8 Tage), aber auf einer Agarschicht von 8 mm ihre typische Form beibehalten. Ich habe mich deshalb bemüht, nie mehr als 100 Kolonieen in einer gewöhnlichen Petri-Schale zur Entwickelung kommen zu lassen und beim Vergleich zweier oder mehrerer Kulturen **diese ganz gleichförmig** zu züchten.

Eine 2-monatige Düngerkultur bei 20° gab in einer Plattenkultur nach 1 Woche außer einer größeren Anzahl A-Kolonieen einige AB^{III}-, AB^{II}- und AB^{I}-Kolonieen. Aus 3 Kolonieen von jeder dieser 3 AB-Formen wurden frische, ganz gleichförmige Schrägagarkulturen angelegt, also aus 9 Stammkolonieen. Von diesen wurden je 3 neue Schrägagarkulturen gemacht und, wie Tabelle II zeigt, auf die 3 Temperaturen 20, 18 und 16° verteilt.

Tabelle II.
Schrägagarkulturen aus den 9 Stammkolonieen.

bei	Typus der 6-tägigen Kulturen								
	Aus AB^{III}-Kolonie			Aus AB^{II}-Kolonie			Aus AB^{I}-Kolonie		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
20°	B	B	B	A	A	A	A	A	A
18°	B	B	B	B	B	A	A	A	A
16°	B	B	B	B	B	B	A	A	A

A = normale Cholerakultur.
B = gerunzelt gewachsen.

Aus Tabelle II ersehen wir, daß die Kultur 1 bei 20° gerunzelt wuchs, die Kultur 4 bei 18 und 16°, aber nicht bei 20°. Die Kultur 6 dagegen hat sich bei 16°, nicht aber bei 18 und 20° gerunzelt entfaltet. Diese 3 Kulturen zeigten also verschiedene kulturelle bzw. biologische Eigenschaften.

Tabelle III.
Frische Plattenkulturen, ca. 20 Stunden bei 37° und 9 Tage bei 20°.

am	Plattenkulturen aus Schrägagarkultur No.		
	1	4	6
6. 6. 12	A	A	A
7. 6.	AB^{I}	A	A
8. 6.	AB^{II}	A	A
9. 6.	AB^{II}	A	A
10. 6.	AB^{III}	AB^{I}	A
11. 6.	AB^{III}	AB^{I}	A
12. 6.	AB^{III}	AB^{II}	A
13. 6.	AB^{III}	AB^{II}	A
14. 6.	AB^{III}	AB^{II}	A
15. 6.	AB^{III}	AB^{II}	AB^{I}

A = normale Cholerabakterien.
AB^{I}—^{III} s. p. 24.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aus Tabelle III ersehen wir, daß 3 der eben behandelten Schrägagarkulturen, und zwar die bei 16° kultivierten No. 1, 4 und 6, nach Umzüchtung auf Platten sich nach 9 Tagen in AB^{III}-, AB^{II}- und AB^{I}-Kulturen umgewandelt hatten. Die AB^{III}-Plattenkultur stammte, wie wir in Tabelle II sehen, von einem Bakterium, das auf frischem Schrägagar bei 20° gerunzelt wuchs, während die AB^{II}-Kultur einem solchen entstammte, welches im gleichartigen Milieu bei 20° typisch, aber bei 18° gerunzelt keimte. Die AB^{I}-Kultur stammte von einem Bakterium, das im gleichartigen Milieu typisch bei 20 und 18°, aber gerunzelt bei 16° wuchs.

Hieraus geht hervor, daß der jeweilige Typus der AB-Kolonie als I, II oder III von den biologischen Eigenschaften des Bakteriums abhängig sein kann, daß unter ganz gleichartigen Versuchsbedingungen die AB^{I}-Kolonie von einem Bakterium gebildet wird, das bei einer niedrigeren Temperatur wie das der AB^{II}-Kolonie typisch wuchert, wie auch daß die AB^{II}-Kolonie einem Bakterium entstammt, welches sich bei einer niedrigeren Temperatur als diejenige der AB^{III}-Kolonie typisch entfaltet.

Tabelle IV.

Entwickelung der A-Kolonie aus der B-Kolonie.

Reihe I					Reihe II				
Tag	Plattenkultur 37°		Kultur in Schrägagar		Tag	Plattenkultur 37°		Kultur in Schrägagar	
	Anzahl der		37°	25°		Anzahl der		25°	20°
	B-Kol.	A-Kol.				B-Kol.	A-Kol.		
6. 4.	69	0			16. 4.	23	0		
8. 4.	112	0			18. 4.	103	0		
10. 4.	48	0			20. 4.	7	0		
12. 4.	13	119	A	B	22. 4.	50	0		
14. 4.	0	88	A	B	24. 4.	39	0		
					26. 4.	62	0		
					28. 4.	11	0		
					30. 4.	65	0		
					2. 5.	47	14	A	B
					4. 5.	0	21	A	B

Reihe III				
Tag	Plattenkultur 37°		Kultur in Schrägagar	
	Anzahl der		20°	18°
	B-Kol.	A-Kol.		
8. 5.	37	0		
12. 5.	2	0		
16. 5.	128	0		
20. 5.	82	0		
24. 5.	27	0		
28. 5.	0	113	A	B

A = normale Cholerakolonie.
B = gerunzelte Kolonie.

Wenn ich eine Platte unmittelbar mit dem Bakterium einer AB-Kolonie beschicke, erhalte ich bei 37°, auf Grund der Schwierigkeit, das Bakterium gleichförmig aufzuschwemmen, primäre A-Kolonieen von sehr

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

verschiedener Größe. Wird diese Kultur bei Zimmertemperatur stehen gelassen, so entwickeln sich AB-Kolonieen von verschiedenen Typen. Dies zeigt, daß der Typus der AB-Kolonie auch von der Größe der primären A-Kolonie abhängig sein kann.

Die Entwickelung der typischen Kolonie aus der gerunzelten.

Im Vorhergehenden habe ich dargelegt, daß das Cholerabakterium unter gewissen Verhältnissen bald typisch, bald gerunzelt auf Agar wachsen kann, je nachdem die eigenen biologischen oder die äußeren physikalischen Eigenschaften des Bakteriums, unter denen es gezüchtet wird, beschaffen sind. Wenn im folgenden die Entwickelung der A-Kolonie aus der B-Kolonie behandelt wird, so fasse ich dabei nur die Veränderung des Bakteriums ins Auge, inwiefern dasselbe ceteris paribus bei einer Temperatur gerunzelt zu wachsen aufhört, bei welcher es zuvor diese letztgenannte Wucherungsform sehen ließ.

Als Ausgangskultur der folgenden Versuche in Tabelle IV verwendete ich eine frische Schrägagarkultur, die nach 20 Stunden bei 40° gerunzelt gewachsen war. Diese Kultur wurde sodann jeden Tag auf frischem Schrägagar umgezüchtet. Gleichzeitig wurde jeden Tag eine Plattenkultur aus der am vorhergehenden Tage gezüchteten Schrägagarkultur gesät. Am 6. Tage waren zum ersten Male einige A-Kolonieen in der am vorhergehenden Tage gesäten Plattenkultur aufgetreten. Mit dem Bakterium einer dieser A-Kolonieen wurde dann Schrägagar bei 37° und 40° geimpft. Am folgenden Tage war die 37°-Kultur gerunzelt, während die 40°-Kultur typisch gewachsen war. Von der letzteren wurde eine Plattenkultur bei 37° angelegt. Tags darauf war dieselbe gerunzelt gewachsen. Dann machte ich abermals eine Schrägagarkultur bei 40° aus einer B-Kolonie in der letztgenannten Plattenkultur und am folgenden Tage eine neue Plattenkultur bei 37° aus der Schrägagarkultur des vorhergehenden Tages. Auf diese Weise machte ich alle 2 Tage eine Schrägagarkultur bei 40° aus einer B-Kolonie, die seit dem gestrigen Tage bei 37° gewachsen war, und alle 2 Tage eine Plattenkultur bei 37° aus der Schrägagarkultur bei 40°, solange überhaupt sich B-Kolonieen bei der letzterwähnten Temperatur entfalteten. Wenn zuletzt außer B-Kolonieen auch A- und BA-Kolonieen oder nur die A- und BA-Kolonieen in der bei 37° bebrüteten Plattenkultur erschienen, stellte ich frische, gleichförmige Schrägagarkulturen aus 5 A-Kolonieen her, worauf ich je 1 Kultur aus jeder Kolonie bei Temperaturen von 37° und 25° wachsen ließ. Die Kulturen wurden, um die Wasserverdünstung zu verhindern, mit zuverlässigen Gummihütchen verschlossen. Nach 20 Stunden beobachtete ich mit der Lupe die Wachstumstypen dieser Schrägagarkulturen.

Wegen der geringen Größe der B-Kolonieen und der Schwierigkeit, das Bakterium aufzuschwemmen, wurde zwecks Uebertragung auf Schrägagar die bei 37° gewachsene Plattenkultur 8—10 Stunden bei 40° hingestellt. Nach dieser Zeit waren die B-Kolonieen von einer schmalen, typischen Randzone umgeben. Das Bakterium wies hier normale Wachstumsform auf und ließ sich leicht emulgieren. Von diesem glatten Rande wurde die nämliche Schrägagarkultur abgeimpft.

Die jetzt beschriebene Methodik in Tabelle IV, Reihe I gilt in der Hauptsache auch für die Reihen II und III.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ta-

Virulenzuntersuchungen

Versuch	Kultur No.	Tag	Benutztes Bakterium
I. Die Mutterkultur (No. 1) aus normaler Kultur, die 2 Monate bei 18° in Dünger gewachsen	1	8. 3.	aus AB^{III}-Kultur bei Zt. nach 8 Tagen entwickelt
	2	23. 3.	aus BA-Vegetation, der Kultur No. 1 entstammend
	3 a	29. 4.	aus der BA-Vegetation, 37 Tage auf trockenem Schrägagar gezüchtet
	3 b	1. 5.	aus der BA-Vegetation, 39 Tage auf trockenem Schrägagar gezüchtet
II. Die Mutterkultur (No. 4) bei 37° auf Schrägagar gerunzelt, aber $2^1/_2$ Monate täglich auf Agar bei 37° übertragen, auch bei Zt. typisch (No. 5) wachsend	4	12. 3.	aus B-Kultur bei 37° auch 18—20 Stunden
	5 a	29. 5.	aus A-Kultur
	5 b	29. 5.	desgl.
	5 c	30. 5.	desgl.
III. Die Mutterkultur (No. 6) aus Kultur bei 25° gerunzelt wachsend	6 a	8. 3.	aus B-Kultur 25°
	6 b	9. 3.	desgl.
	7 a	17. 4.	aus BA-Vegetation der Kultur 6
	7 b	18. 4.	desgl.
	8	31. 5.	aus der BA-Vegetation No. 6, 43 Tage auf trockenem Schrägagar gezüchtet
	9 a	15. 6.	aus der Kultur No. 8, 15 Tage auf trockenem Schrägagar gezüchtet
	9 b	16. 6.	aus der Kultur No. 8, 16 Tage auf trockenem Schrägagar gezüchtet
IV. Die Mutterkultur (No. 10) aus normaler Kultur, die fast 3 Monate bei 20° in Dünger gewachsen	10 a	27. 3.	aus AB^{I}-Kolonie bei Zt. nach 8 Tagen
	10 b	28. 3.	desgl.
	11 a	18. 4.	aus A-Kolonie bei Zt. nach 8 Tagen. Die A-Kolonie ist aus der AB^{I}-Kolonie nach 3-maliger Umzüchtung entstanden
	11 b	19. 4.	desgl.
	12 a	31. 5.	aus 42-tägiger A-Kolonie der Kultur 11
	12 b	1. 6.	aus 43-tägiger A-Kolonie der Kultur 11
V. Die Mutterkultur (No. 13) aus normal. Kultur, die 4 Monate bei 18° in Dünger gewachsen	13	27. 4.	aus AB^{III}-Kolonie bei Zt. nach 5 Tagen
	14	18. 5.	aus BA-Vegetationen der Kultur 13
	15 a	20. 6.	aus der Kultur 14, 33 Tage auf trockenem Schrägagar gezüchtet
	15 b	21. 6.	aus der Kultur 14, 34 Tage auf trockenem Schrägagar gezüchtet
VI. Die Mutterkultur (No. 16), durch Einzenkultur gewonnen. Die Kultur wuchs gerunzelt bei 25° nach 20 Stunden	16 a		aus B-Kultur 25°
	16 b		desgl.
	17 a		aus BA-Vegetation der Kultur 16
	17 b		desgl.

Wenn sich zuletzt bei 37° nur A- und BA-Kolonieen entfaltet hatten, züchtete ich eine Schrägagarkultur bei 37° aus einer A-Kolonie. Sodann wurde eine Plattenkultur bei 25° angelegt. Darauf züchtete ich abwechselnd Schrägagarkulturen bei 37° und Plattenkulturen bei 25° aus der nächstvorhergehenden Schrägagarkultur, solange sich noch B-Kolonieen bei 25° entfalteten.

Wenn endlich sich nur A- und BA-Kolonieen bei 25° entfalteten, machte ich aus einer A-Kolonie in Plattenkultur eine Schrägagarkultur

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

belle V.
mit dem Stamme C^8a.

Bakterie	Dosis in Normalösen	Resultate	Bauchinhalt. Ch. = Cholerabakterien
β-Bakt.	2	† 56 Std.	Eiterähnlich. Einzelne Ch.
„	1	† 24 „	Seropurulent. Einzelne Ch.
α-Bakt.	1/2	† 18 „	Klar, fadenziehend
„	1/3	lebt	
β-Bakt.	3	† 30 Std.	Eiterig. Einzelne Ch.
„	1	† 8 „	Klar, fadenziehend. Reichliche Ch.
„	1/2	† 20 „	desgl.
„	1/3	lebt	
„	2	lebt	
„	3	† 16 Std.	Seropurulent. Einzelne Ch.
„	1	lebt	
„	2	† 14 Std.	Seropurulent. Reichliche Ch.
„	1	† 18 „	Seropurulent. Einzelne Ch.
„	1/2	lebt	
„	1	† 36 Std.	Seropurulent. Einzelne Ch.
„	1	lebt	
„	2	† 10 Std.	Klar, durchsichtig, fadenziehend. Reichlich Ch.
„	1	† 12 „	
„	1/2	† 72 „	Klar, fadenziehend. Einzelne Ch.
α-Bakt.	1/3	† 14 „	Klar, durchsichtig. Reichlich Ch.
„	1/4	† 24 „	desgl.
β-Bakt.	2	† 36 „	Eiterig. Einzelne Ch.
„	1	† 22 „	Klar, fadenziehend. Reichlich Ch.
α-Bakt.	1/2	† 8 „	Klar, durchsichtig. Reichlich Ch.
„	1/3	† 28 „	desgl.
β-Bakt.	2	lebt	
„	3	† 40 Std.	Eiterig. Einzelne Ch.
„	1/2	lebt	
„	1	† 48 Std.	Seropurulent. Einzelne Ch.

bei 37° und daraus eine Plattenkultur bei 20°. Dies Verfahren wurde fortgesetzt, solange noch B-Kolonieen bei 20° wuchsen.

Bei Besichtigung der Tabelle IV, Reihe I finden wir, daß Plattenkulturen vom 6.—10. April nur B-Kolonieen aufwiesen. Seitdem erschienen typische Kolonieen in zunehmender Menge. Analoge Verhältnisse haben sich in den Reihen II und III wiederholt. Aus der Untersuchung erhellt, daß sich die Bakterien der sämtlichen A-Kolonieen nicht der Art nach, sondern nur relativ von denen der B-Kolonieen unter-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

scheiden. Ich habe die sukzessive Veränderung bei den 3 verschiedenen Temperaturen von 37°, 25° und 20° verfolgen können. Die A-Kolonie hat sich nicht plötzlich aus der B-Kolonie, sondern erst durch verschiedene Stufen der BA-Kolonie entwickelt.

Auch in den Fällen, wo BA-Vegetationen erst nach längerer Zeit in den zuerst gerunzelt gewachsenen Schrägagarkulturen zum Vorschein kommen, haben wir es offenbar mit relativ veränderten Bakterienindividuen zu tun. Das Bakterium hat seine biologischen bzw. kulturellen Eigenschaften sukzessive derart verändert, daß es zuletzt die Fähigkeit erworben hat, sich typisch in einem Milieu zu entwickeln, worin es ursprünglich gerunzelt wuchs.

Schließlich habe ich die Bedeutung der Nahrungsmenge untersucht.

Dabei hat sich folgendes herausgestellt: Wenn die Menge des Agarnährbodens hinreichend ist, kann die Entwickelung in der Richtung gehen, daß das Bakterium bei immer niediger Temperatur typisch wächst. Wenn die Menge aber zu gering ist, kann die bakterielle Veränderung in der entgegengesetzten Richtung gehen, d. h. so, daß das Bakterium bei immer höherer Temperatur gerunzelt wächst.

Wir haben oben gesehen, daß die Cholerabakterie C^8a gerunzelte Kolonieen und darauf wieder normale, typische bilden kann. Es erübrigt daher, mitzuteilen, wie die Bakterienindividuen sich dabei verhalten. Bei den gesamten veränderten Kolonieenformen treffen wir unbewegliche Bakterien an, die ich β-Bakterien genannt habe. Die Bedingungen, unter denen diese Form wieder beweglich wird, d. h. zu α-Bakterien zurückgeht, werde ich jetzt beschreiben, und zwar zusammen mit meinen Untersuchungen über die Virulenz dieser Formen. Die betreffenden Untersuchungen finden sich in Tabelle V wiedergegeben.

Tabelle V enthält 6 Versuche; in jedem ist die zuerst angeführte Nummer die Mutterkultur. Die darauf folgenden Nummern stammen von der zuerst angeführten Mutterkultur.

Die Meerschweinchen hatten ein Gewicht von 200 g. Vor jeder Virulenzprüfung wurde das Bakterium 20 Stunden bei 37° auf frischem Schrägagar gezüchtet und dann intraperitoneal in 1 ccm Bouillon eingeimpft. Zur Gewinnung der BA-Vegetationen aus dem gerunzelt wachsenden Bakterium habe ich stets frischen Schrägagar verwendet. Bei Weiterzüchtung des Bakteriums der BA-Vegetationen benutzte ich dagegen trockenen Schrägagar, weil ich im Laufe meiner Untersuchungen gefunden habe, daß das Bakterium dann in eine bewegliche Form überging.

Das α-Bakterium war aus dem β-Bakterium nicht zu gewinnen, wenn ich nicht vorher die Kultur bei 37° gezüchtet hatte, bevor die Kultur bei Zimmertemperatur gehalten wurde. Deshalb wurden diese Kulturen zuerst stets 20 Stunden bei 37° gezüchtet und dann bei Zimmertemperatur gehalten.

Aus der Tabelle V ersehen wir, daß innerhalb jedes Versuches die tödliche Dosis jeder nachfolgenden, geprüften Kultur in der Regel eine geringere als die jeder vorhergehenden war. Beim Vergleich der tödlichen Dosis der Mutterkulturen mit den nachfolgenden Kulturen ergibt sich, daß der Unterschied keineswegs so unbeträchtlich gewesen ist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Allemal, wenn sich ein β-Bakterium zum α-Bakterium entwickelt hatte, war die tödliche Dosis dieses eine geringere, als die des β-Bakteriums und auch eine geringere als die des Stammes C^8a. Die Kulturen in den Versuchen III und IV der Tabelle V zeigten dagegen gegenüber dem Stamme C^8a keine deutliche Virulenzerhöhung; die betreffenden Bakterien gingen auch nicht in α-Bakterium über.

Die vorhergehenden Cholerakulturen wurden alle mit Hilfe von Dünger gewonnen. In Tabelle VI wird ein Vergleich zwischen den Kulturen in Dünger, Fleischbrühe, Algenschlamm und Gelatine vorgeführt. Wie die Tabelle zeigt, kultivierte ich in jedem Nährboden bei 6 verschiedenen Temperaturen. Den Kulturen bei 37° und 25° setzte ich, um zu starke Verdunstung zu verhindern, Gummihütchen auf. Bei Untersuchung der 2-monatigen Kulturen wurde die Kultur über die trockenen Agarplatten mittels gebogener Glasstäbe gerieben. Nach 20 Stunden wurden die Platten bei 37° eine Woche bei Zimmertemperatur gelassen und danach untersucht.

Tabelle VI.

Proz. gerunzelte Kolonieen auf ca. 2 mm dicken Agarplatten.

Der Stamm C^8a, vorher ca. 2 Monate gezüchtet				
bei	in			
	Dünger	Bouillon	Algenschlamm	Gelatine
37°	—	—	—	0 Proz.
25°	42 Proz.	17 Proz.	5 Proz.	0 „
20°	68 „	42 „	17 „	0 „
18°	68 „	42 „	17 „	0 „
16°	17 „	5 „	—	0 „
14°	5 „	—	—	0 „

Bei dieser Serie erwiesen sich die Kulturen bei 37°, mit Ausnahme der Gelatinekultur, als steril.

Wenn wir die relative Anzahl der gerunzelt wachsenden Individuen aus den Düngerkulturen vergleichen, so ersehen wir, daß sie in den Kulturen bei 18° und 20° am größten, in der bei 25° ein wenig geringer, bei 16° noch geringer und in der Kultur bei 14° sehr gering war. Unter den genannten Verhältnissen dürften also 18°—20° als Temperaturoptimum für die Entwickelung der gerunzelt wachsenden Individuen anzusehen sein.

Aus den Düngerkulturen konnte ich also eine sehr reichliche Menge, aus den Bouillonkulturen eine immer noch große Anzahl, aus den Algenschlammkulturen aber eine relativ kleine Zahl und in der Gelatine keine gerunzelt wachsenden Individuen hervorbringen.

Schließlich will ich noch den Beweis führen, daß ich in dem vorher mitgeteilten Versuche wirklich mit der Cholerabakterie gearbeitet habe. Die gewöhnlichen Merkmale der Cholerabakterie waren stets da, aber ich konnte die Pfeiffersche Reaktion nicht ausführen, weil der Stamm C^8a nicht genügend virulent war. Deshalb erhöhte ich die Virulenz durch 30 Meerschweinchenpassagen. Da dieselbe $^1/_{10}$-Oese betrug, wurde die Reaktion mit Serum vom Cholerastamm F (s. unten) angestellt; sie fiel positiv aus.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das gerunzelt wachsende β-Bakterium des Stammes C^8a bekam durch dieselbe Methode auch eine Virulenz von $^1/_{10}$ Oese, aber erst seitdem es 49 Meerschweinchenpassagen durchgemacht hatte. Die Pfeiffersche Reaktion fiel danach positiv aus. Das dabei benutzte Bakterium wuchs fortwährend bei Zimmertemperatur gerunzelt und war ganz unbeweglich.

Es ist mir geglückt, von der Cholerabakterie Ein-Zellkulturen nach Burri darzustellen, nachdem die Alkaleszenz des Nährbodens stark erhöht worden war. Ein-Zellkulturen wurde von α- und β-Bakterien und $\alpha\beta$-Bakterien hergestellt. Sämtliche Kulturen wurden von Agglutininserum in einer Verdünnung von 1:8000 vollständig agglutiniert. Dieselben reinkultivierten Bakterien wurden 3 Monate in Dünger bei 20° gelassen. Darauf wurden von den Düngerkulturen Agarplatten gegossen. Dann zeigte es sich, daß das α-Bakterium eine Mischung typischer und gerunzelter Kolonieen, das $\alpha\beta$- und β-Bakterium aber nur gerunzelte Kolonieen bei Zimmertemperatur hervorbrachte.

3. Untersuchung über andere Cholerastämme.

C^I ist eine alte Laboratoriumskultur, wahrscheinlich von Hamburg 1892. C^6, C^7 sind Stämme von der Petersburger Epidemie 1908. St stammt von einer Epidemie um das Jahr 1905; Pf, F, und El Tor habe ich aus Pfeiffers Laboratorium erhalten.

Alle zeigen normales Aussehen der Bakterien und Kolonieen, sowie normalen Geruch der Kolonieen und Rotreaktion. Ein mit dem Stamme F hergestelltes Serum agglutiniert die Stämme vollständig, wie folgt: C^7 und C^6a 1:4000, Pf und C^6 1:6000, F und C^I 1:10 000.

Die Virulenz wurde mit Meerschweinchen von 200 g geprüft. Dosis letalis minima vom Stamme F war $^1/_4$ Oese und nach 5 Meerschweinchenpassagen $^1/_{20}$; 5 Oesen von Pf töteten nach 3 Tagen ein Meerschweinchen von 200 g, die übrigen erforderten größere Gaben. El Tor dagegen vermochte ein Meerschweinchen von 430 g in einer Dosis von $^1/_{50}$ Oese innerhalb 11 Stunden zu töten.

Tabelle VII.

Andere Cholerastämme in Düngerkultur bei 18°.

No.	Stamm	Düngerkulturen		Darauf in Agarplatten	In diesen Platten außer A folgende Kolonieen
		beimpft von	Dauer		
1	C^1	8-täg. Kultur	3 Monate	dünn	AB^I mäßig, AB^{II-III} einzelne
2	C^6a	frischer Kultur	$4^1/_2$ „	dick	nur A
3	C^6a	alter Kultur	3 „	„	AB^{I-II} in Mehrzahl
4	C^6b	8-täg. Kultur	$2^1/_2$ „	dünn	AB^{I-II} mäßig
5	C^7	dgl.	$2^1/_2$ „	dick	AB^I reichliche, AB^{II} mäßig, AB^{III} einzelne
5a	C^7	„	3 „	„	AB^I einzelne
6	St	„	2 „	dünn	AB^I einzelne, AB^{II-III} mäßig
7	Pf	„	$2^1/_2$ „	„	AB^{I-III} mäßig
8	F	frischer Kultur	4 „	dick	nur A
9	F	4-monatl. Düngerkultur	2 „	dünn	A, 2 BA-Kolonieen
10	F	frisch v. vorig. BA-Kolonie	1 „	„	AB^{III} in Mehrzahl
11	F	frisch v. vorig. AB^{III}-Kol.	3 Wochen	„	nur AB^{III}
12	El Tor	frischer, bzw. alter Kultur	7 bzw. 4 Mon.	—	nie gerunzelt; weinblattähnlich, unregelmäßig

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aus Tabelle VII erhellt, daß aus den sämtlichen Stämmen, ausgenommen El Tor, gerunzelt wachsende Individuen haben gewonnen werden können. Bei diesen gerunzelt wachsenden Kulturen habe ich Eigenschaften gefunden, die denjenigen der aus C^8a stammenden vollständig entsprachen: Das Bakterium wuchs bei 37° typisch, aber bei Zimmertemperatur gerunzelt; die gerunzelte Kolonie war schwer aufzuschwemmen; das Bakterium war völlig unbeweglich und bildete auf Bouillon nach 20 Stunden bei 37° ein dünnes oder kaum sichtbares (C) oder sogar kein Häutchen (St); die genannte Bouillon gab eine ausgesprochene Rotreaktion. Zuletzt sei noch darauf aufmerksam gemacht, daß gerunzelt wachsende Individuen sich schneller entwickeln, wenn der Dünger mit alter Agarkultur besät, als wenn er mit frischer Kultur beimpft wird.

Nach mehr als 9-monatiger Züchtung des Stammes El Tor in Dünger gewann ich keine gerunzelt wachsenden Individuen. Dagegen wurden die Kolonieen weinblattähnlich mit granulaähnlichen Bildungen.

Ueber den Uebergang dieser Bakterien von β- bis α-Formen sowie über meine Virulenzuntersuchungen teilte ich folgendes mit:

C^7, No. 5a, Tabelle VII: Eine AB^I-Kolonie wächst ohne Umzüchtung auf Schrägagar zuerst 20 Stunden bei 37° und alsdann 36 Tage bei Zimmertemperatur. Dann sieht man in der Kultur nur Körnchen. Nach Ueberführung auf Agar entwickeln sich lebhaft bewegliche Spirillen.

Pf, No. 7, Tabelle VII: Eine AB^{III}-Kolonie wurde je 10 Tage zweimal auf dünne Platten gesät; von einer zuletzt gebildete BA-Kolonie wurden BA-Vegetationen auf trockenem Schrägagar umgezüchtet. Nach einem Monat enthielt die Kultur augenscheinlich nur Körnchen; sie entwickelte nach Umzüchtung in Agar bei 37° lebhaft bewegliche Spirillen. Eine Oese davon tötete ein Meerschweinchen von 220 g in 20 Stunden; der Bauchinhalt war seromukös. Von der Stammkultur wurden 5 Oesen und 3 Tage gebraucht, um ein Meerschweinchen von 200 g zu töten.

F, No. 11, Tabelle VII: Von einer AB^{III}-Kolonie hatte sich eine BA-Kolonie entwickelt. Die BA-Vegetationen dieser BA-Kolonie wurden reingezüchtet und auf Schrägagar weiterkultiviert. 1 Oese davon tötete in 10 Stunden ein Meerschweinchen von 220 g. Der Bauchinhalt war schleimig-serös und enthielt reichliche Cholerabakterien. $^1/_8$ Oese tötete ein Meerschweinchen von 205 g in 30 Stunden. Der Bauchinhalt war schleimig-serös, mit spärlichen Cholerabakterien. Nachdem das Bakterium zuerst 20 Stunden bei 37° auf frischem Schrägagar bebrütet und alsdann 12 Tage bei Zimmertemperatur gehalten worden war, tötete $^1/_5$ Oese der genannten Kultur in 24 Stunden ein Meerschweinchen von 230 g. Alle diese Kulturen enthielten sowohl bewegliche wie unbewegliche Bakterien. Die Stammkultur hatte schon eine so hohe Virulenz, daß $^1/_4$ Oese ein Meerschweinchen von 200 g tötete.

Die Entwickelung des β-Bakteriums in das normale, bewegliche Bakterium habe ich hinsichtlich der Kultur C^7 und Pf genau verfolgt. Aus dem gerunzelt wachsenden Bakterium entwickelte sich eine Form, die ceteris paribus typisch wuchs. Sie unterschied sich in keiner Beziehung von analogen Formen des Stammes C^8a. So behielt sie unmittelbar nach ihrem Erscheinen die Unbeweglichkelt bei. ging aber dann bei angemessener Züchtung auf Agar in eine bewegliche Form über. Diese trat jedoch bei Ueberimpfung erst auf, als die Agarkulturen mehrere Wochen alt waren und die Körnchenbildung stark hervorgetreten war.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Im Gegensatz dazu entwickelte sich die bewegliche Form aus dem gerunzelten F sehr schnell, so daß ich nicht feststellen konnte, ob eine Körnchenbildung vorherging oder nicht.

Oben haben wir gesehen, daß aus der β-Form der Kultur Pf ein α-Bakterium erzielt wurde, welches eine höhere Virulenz als diejenige der Stammkultur zeigte, sowie daß ich aus den BA-Vegetationen der Kultur F eine Kultur mit höherer Virulenz als die der BA-Vegetationen desselben Stammes gewonnen hatte.

4. Resultate. Cyklische Entwickelung des Choleravirus.

Tabelle VIII veranschaulicht das hauptsächliche Resultat, das ich erhielt. wenn die Cholerabakterie zuerst in Dünger und darauf in Agar kultiviert wurde. In Dünger wird die Bakterie allmählich lang und unbeweglich, auf Agar wird sie aber bei niedrigerer Temperatur kurz und unbeweglich und gibt dann gerunzelte Kolonieen. Zuletzt kann durch Kultur auf Agar die veränderte Bakterie wieder normale Kolonieen bilden und dann zuletzt normale, bewegliche Spirillen zeigen. Dann ist die Virulenz erhöht.

Auch in Fleischbrühe und Algenschlamm wurde der Stamm C^8a derart umgewandelt, daß er unbeweglich wurde und gerunzelte Kolonieen bei Zimmertemperatur bildete. In Gelatine gelang diese Umwandlung nicht, wohl aber konnte sie auf Agarplatten erzielt werden.

Tabelle VIII.

Cyklische Entwickelung der Cholerabakterie in 7 Stufen.

Stufen	1	2	3	4	5	6	7 = 1 mit erhöhter Virulenz
Methode	Ausgang von normaler = α-Bakterie	Nach Kultur in Dünger 2—6 Wochen	Nach Fortwachsen in demselben Dünger noch 4—6 Wochen	Nach Fortzüchtung derselben Bakt. noch mehrere Wochen in neuem Dünger	Nach täglicher Ueberführung auf frischen Agar	Kultur auf Agar 1 Tag 37°, darauf 3—5 Wochen Zimmertemp.	Kultur der Körnchen auf Agar 20 Std. 37°
Kolonie auf Agarplatten	Typisch = A-Kolonie	Typisch	Bei 37° typisch, bei Zimmertemp. gerunzelt = AB-Kolonie	Gerunzelt bei immer höherer Temperatur, zuletzt bei 37°	Typisch bei immer niedriger Temperatur, zuletzt typisch auch bei 14° und auf trockenem Agar	Typisch	Typisch
Bakterie auf Agar	α-Bakterie	Lang und unbeweglich = $\alpha\beta$-Bakterie	Bei Zimmertemperatur kurz und unbeweglich = β-Bakterie	β-Bakterie	β-Bakterie = kurz, unbeweglich	Zuerst β-Bakterie, zuletzt Körnchen	Normal, beweglich = α-Bakterie
Virulenz f. Meerschw. 200 g	Dosis letalis minima = 2—3 Oesen		Niedriger als in 1		Etwas höher als in 3		Dosis letalis minima bis auf $^1/_4$ Oese

Die genannte Umwandlung erfolgte am schnellsten in Dünger und erstreckte sich auf die größte Zahl der Individuen; Bouillon wirkt wie Algenschlamm, aber nicht so gut wie Dünger.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Immer wurde nur ein Teil der Kultur, und zwar eine größere oder geringere Zahl einzelner Individuen, umgewandelt. Die Temperatur zwischen 18—20° schien für diese Umwandlung die geeigneste zu sein; 16° und 25° wirkten weniger günstig.

Alle untersuchten Stämme, außer El Tor, gaben diesbezüglich ähnliche Ergebnisse.

Da die Cholerabakterie der Düngerkultur gerunzelt zu wachsen angefangen hat, kann sie durch verändertes Milieu beliebig zur Bildung normaler oder gerunzelter Kolonieen gebracht werden. Bei niedriger Temperatur, geringer Agarmenge und trockenem Agar wächst sie gerunzelt, während dieselbe Bakterie bei höherer Temperatur, größerer Agarmenge und frischem Agar noch normal wächst. Um überhaupt die kulturellen Eigenschaften zweier Cholerastämme vergleichen zu können, ist es erforderlich, daß die beiden Stämme in ganz gleichem Milieu gezüchtet werden.

Wenn die Bakterie bei 37° normale Kolonieen bildet und dieselben Kolonieen nachher bei Zimmertemperatur in gerunzelte übergehen, so treten zuerst granulaähnliche Bildungen im darunterliegenden Agar auf und die Kolonie nimmt eine trübe, weißliche Färbung an. Dann tritt die Randpartie der Kolonie als dammförmige Erhöhung hervor. Endlich findet ein Fortschreiten des Wachstums von genannter Erhöhung aus gegen das Zentrum der Kolonie hin statt, wobei ein radiales oder unregelmäßiges Balkenwerk entsteht und die Kolonie bräunlich wird.

Die Zeit von der Impfung des Stammes C^8a in Dünger an, bis das Bakterium auch bei 37° gerunzelt wuchs, betrug in runder Zahl $^1/_2$ Jahr.

Das kulturell veränderte Cholerabakterium kann durch Züchtung auf Agar in das normale Cholerabakterium zurückgehen. Die Umwandlung des in jedem beliebigen Milieu typisch und üppig wachsenden, aber völlig unbeweglichen Bakteriums (z. B. das Bakterium der BA-Vegetationen) in das normale, lebhaft bewegliche Spirillum erzielte ich durch die Uebertragung jenes Bakteriums auf 3 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrten Agar und Züchtung dieser Kultur ohne Ueberimpfung zuerst 20 Stunden bei 37° und dann während 3—5 Wochen bei Zimmertemperatur. Diese Entwickelung zum beweglichen Bakterium beobachtete ich nur, wenn die ganze Kultur in so gut wie ausschließlich kleine Körnchen von im Durchmesser $^1/_2$—$^3/_4$ μ und ersichtlich von derselben Beschaffenheit wie in normalen alten Cholerakulturen umgewandelt war.

Die Virulenz der kulturell veränderten, unbeweglichen Cholerabakterie kann durch mehrfache Meerschweinchenpassagen bedeutend erhöht werden, ohne daß die Bakterie darunter beweglich wird, oder ihre kulturellen Eigenschaften verändert.

In diesen Untersuchungen habe ich eine zykliche Entwickelung des Choleravirus erzielt. Ich habe keine sichere Mutation angetroffen, obwohl die von mir studierten Variationen eine gewisse Konstanz eine Zeitlang hat beibehalten können, was Almquist „relative Erblichkeit“ genannt hat. Meines Erachtens muß man die Anwendung des Wortes Mutation auf die Entstehung konstanter, neuer Arten beschränken.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:33 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Veränderungen von Bakterien im Tierkörper.

XI. Untersuchungen über kapsellosen Milzbrand.

[Aus dem Hygienischen Institute der deutschen Universität Prag.]

Von Prof. Dr. **Oskar Bail,** Prag.

In einer vorangegangenen Mitteilung (dieses Centralbl. Abt. I. Bd. 75. No. 2) wurde über einen kapsellosen Stamm des Milzbrandbacillus berichtet, der durch Erwärmung einer regelrechten Zucht auf 48—49° entstanden war. Er diente zunächst zur Untersuchung der Beziehung zwischen Kapselbildung, Sporenbildung und Infektiosität, wobei sich herausstellte, daß zwischen Kapsel- und Sporenbildung keine solche besteht, wohl aber eine strenge, zwischen Kapselbildung und Infektiosität (gemessen am Kaninchen und Meerschweinchenversuche). Ueberdies ergab sich, daß der kapsellose, weiter einfach mit A bezeichnete Stamm, der in allen Eigenschaften, mit Ausnahme der genannten, sich vom regelrechten Milzbrande nicht unterschied, seine Besonderheiten streng erblich beibehielt. Er hat seit seiner Gewinnung weit über 100 Zuchten in flüssigem Serum durchgemacht, ohne je zur Kapselbildung wiederzugelangen; durch Ausstreichen von Serumzuchten auf Agarplatten wurden im Verlauf der Zeit gegen 3000 Einzelkolonieen gesondert auf Serum ausgesät, die sich ohne jede Ausnahme als kapselfrei erwiesen.

Soweit also durch die Arbeit eines einzelnen überhaupt der Nachweis der völligen und erblichen Beständigkeit eines Bakterienstammes zu führen ist, dürfte er für diesen als erbracht gelten. Auf eine Erörterung darüber, ob man den A-Stamm als Mutante, Fluktuante, Dauermodifikation oder dergleichen anzusprechen habe, möchte Verf. nicht eingehen. Das zur Verfügung stehende Material über Erblichkeit bei ungeschlechtlicher Vermehrung erscheint noch nicht genügend groß, als daß sich schon jetzt feststehende Begriffe aufstellen und begründen ließen, welche sich an die bei der geschlechtlichen Vermehrung ermittelten ohne weiteres anschließen würden. Natürlich soll diese Ueberzeugung, welche dazu führt, zunächst nur neue Versuchstatsachen zu ermitteln, in keiner Weise eine absprechende Kritik der überaus wertvollen Arbeiten von Wolff, Schiemann, Eisenberg, Neisser, Töniessen u. a. enthalten.

Hatte die ununterbrochene Weiterzüchtung auf Serum, also ein beständig ausgeübter Reiz, nicht zur Wiedererlangung der Kapselbildung geführt, so ergab sich auch kein Erfolg, wenn dazwischen Züchtung auf Agar eingeschaltet wurde, bei der es zu mehr oder minder reichlicher Sporenbildung kam. Die Agarbakterien, gleichgültig ob sie als solche oder nach vorhergehender Erhitzung auf 75° als reine Sporen in Serum eingebracht wurden, ergaben sofort wieder kapselloses Wachstum, so daß die „Verlustmutante“ auch in der Dauerform erhalten bleibt.

Wie bereits in früheren Versuchen, so ließ sich auch bei deren Wiederholung durch Aufenthalt im Meerschweinchenkörper die Kapselbildung nicht wieder hervorrufen.

Ein Meerschweinchen erhielt 1 ccm Serumkultur der 25. auf Serum gezüchteten Generation, nachdem diese durch etwa 2 Monate auf Agar gewachsen und von da auf Serum rücküberimpft worden war, intraperitoneal. Nach 24 Stunden fand sich in der

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bauchhöhle dünner Eiter, der bei Plattenzüchtung noch 9 Milzbrandkolonieen, sämtlich kapsellos auf Serum wachsend, lieferte. In späteren Entnahmen ließen sich Bacillen nicht mehr nachweisen. Drei Tage später erhielt das Tier 2 ccm Serumkultur unter die Haut, worauf schon nach 2 Stunden Schwellung, nach 24 Stunden ausgebreitetes Oedem auftrat; Züchtung lieferte 5, am nächsten Tage nach weiterem Wachstum des Oedemes 3 Milzbrandkolonieen, sämtlich kapselfrei. Das Oedem verkleinerte sich dann rasch und lieferte keine Bacillen mehr.

Meerschweinchen 2 erhielt 5. Okt. 1 ccm der gleichen Serumkultur wie Meerschweinchen 1 unter die Haut.

6. Okt. Geringes Oedem, ergibt 2 Kolonieen, kapselfrei.

7. Okt. Oedem verkleinert, 19 Kolonieen, davon 8 auf Serum kapselfrei. Oedem verschwunden. Einspritzung von 2 ccm Serumkultur an anderer Stelle unter die Haut.

9. Okt. Das schon nach 2 Stunden merkbare Oedem hat sich ausgebreitet, ergibt 52 Kolonieen, davon 20 auf Serum kapselfrei.

10. Okt. Oedem über den ganzen Bauch; 21 Kolonieen, davon 15 auf Serum kapselfrei.

11. Okt. Oedem sehr zurückgegangen, Reste abgegrenzt derb, ergibt keinen Milzbrand mehr.

Vollständig gleichartig verliefen weitere Versuche mit der 40. Serumzüchtung.

In keiner Weise fand also durch einen selbst mehrtägigen Aufenthalt im Körper des so sehr empfindlichen Meerschweinchens ein Ersatz der verlorenen Kapselbildung statt. Zweifellos aber hat sich wieder ergeben, daß der Stamm A noch eine gewisse Wirkung auf den Tierkörper auszuüben vermag und zur Oedembildung Veranlassung gibt. Man darf dabei allerdings die Wirkung nicht außer acht lassen, welche die Serumeinspritzung selbst (Rinderserum) ausübt; daß aber diese allein zur Erklärung nicht ausreicht, beweist die Zunahme des Oedems am 2.—3. Tage. Die Lebensdauer der Bakterien oder vielmehr die Möglichkeit ihres Nachweises im Oedem ist aber eine sehr beschränkte, von einer Vermehrung kann keine Rede sein.

Auch das Kaninchen zeigte ein ähnliches Verhalten:

Kaninchen 1 erhielt 5. Okt. 1 ccm Serumkultur wie Meerschweinchen 1 unter die Haut.

6. Okt. Geringes Oedem, aus dem sich keine Bacillen züchten ließen und das am nächsten und übernächsten Tage verschwunden war.

8. Okt. erhielt das Tier an der gleichen Stelle 2 ccm Serumkultur unter die Haut.

9. Okt. Pflaumengroßes, gut abgegrenztes Oedem; 38 Milzbrandkolonieen, davon 18 auf Serum kapsellos.

10. Okt. Oedem in früherer Ausdehnung, aber derb, ergab keine Bacillen. Es verschwand bis zum 12. Okt. bis auf einen kleinen Knoten in der Haut.

16. Okt. Satz von 2 ccm Serumkultur in 0,5 ccm Bouillon unter die Haut.

17. Okt. Das schon 6 Stunden nach der Einspritzung kleinapfelgroß entwickelte Oedem hat sich sehr ausgebreitet, war am 18. unter zunehmender Derbheit noch etwas größer geworden, bildete sich bis zum 21. zu etwa Pflaumengröße zurück; ein erbsengroßer Hautknoten war noch 8 Tage später vorhanden. Während der ganzen Zeit konnte aus den entnommenen Flüssigkeitsproben kein Milzbrand gezüchtet werden.

Ein anderes Kaninchen, mit der 40. Serumzucht des Stammes A in der gleichen Weise geimpft, verhielt sich ebenso.

Die Fähigkeit, bei Einspritzung unter die Haut Bildung von oft sehr ausgebreiteten Oedemen hervorzurufen, die in diesen Kaninchenversuchen ohne Zweifel auch den serumfrei gemachten Bakterien zukommt, und welche bei wiederholter Einführung so rasch erfolgt, daß man an anaphylaktische Erscheinungen denken kann, bleibt also dem kapsellosen Stamme erhalten. Der vollständige Mangel einer entsprechenden Bakterienvermehrung, namentlich beim Kaninchen, scheint aber eher auf eine Giftwirkung hinzuweisen, für die auch das Verhalten im Mäuseversuche spricht. Wenn bei einem Tiere überhaupt, so war bei der Maus mit ihrer hohen Empfindlichkeit eine Vermehrung unter Wiederannahme der Kapselbildung zu erwarten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Maus 1 erhielt 17. Okt. 0,25 ccm Serumkultur der 40. Züchtung unter die Haut.

18. Okt. Etwas Oedem; in der entnommenen Flüssigkeit waren Milzbrandbacillen nicht selten, einzeln oder in kurzen Ketten von meist dicken, kurzen Gliedern, ohne jede Kapsel, höchstens etwas gequollen, aber mit tierischen Bacillen nicht zu verwechseln. Von etwa 1000 aufgegangenen Kolonieen wurden 12 auf Serum übertragen und wuchsen vollkommen kapselfrei.

19. Okt. Oedem über den Rücken ausgedehnt, Bacillen wurden weder gesehen, noch ließen sie sich züchten.

20. Okt. Das Oedem hat sich zu einem mächtigen Knollen an der einen Rückenhälfte zusammengezogen; es gingen 17 Kolonieen auf, die auf Serum ohne Ausnahme kapselfrei wuchsen.

Am 21. Okt. war das Tier schläfrig, krank, aus dem unveränderten Oedem ließen sich Bacillen nicht züchten, am nächsten Tage, also nach 5 Tagen, starb es. Das Oedem hatte, bis auf geringeren Saftreichtum, ganz das das Aussehen von regelrechtem Milzbrandödem und enthielt neben spärlichen Zellen ziemlich viele Bacillen ohne jede Kapsel, daneben zahlreiche große Kokken. Die Milz war dunkel, aber sehr klein, die Leber dunkel. In keinem Organe und ebensowenig im Herzblute waren mikroskopisch Bakterien zu finden, die Züchtung ergab überall weiße Staphylokokken, überdies in der Milz 5, in der Leber 2, im Oedem zahlreiche Milzbrandkolonieen. Sämtliche daraus angelegte Serumkulturen erwiesen sich als vollkommen kapselfrei. Eine der aus der Milz erhaltenen Serumkulturen diente zur Impfung von Maus 2 (0,05 ccm) und 3 (0,5 ccm) unter die Haut. Vom 26. Okt. bis 4. Nov. zeigte keine der beiden Mäuse eine bemerkenswerte Erscheinung. An diesem Tage wurde beiden neuerlich 0,5 ccm Serumkultur von A 1. Mäusepassage unter die Haut gepritzt. Schon am 5. Nov. war fühlbares Oedem vorhanden, in dem sich einzelne gut gefärbte, kapsellose Stäbchen fanden und auf Agar 60 Kolonieen aufgingen; 15 davon, auf Serum übertragen, wuchsen kapsellos.

Am 6. Nov. hatten beide Tiere verbreitertes Oedem, doch ergab die Kultur nur bei einem 5, auf Serum kapsellos wachsende Kolonieen. Eine Maus starb in der Nacht vom 6. zum 7., die andere am 7. Nov. Beide hatten reichlich Oedem, die Milz beider war klein und blaß. Bei der einen Maus ließen sich aus Oedem (Oese Saft) 2 Milzbrandkolonieen züchten, Milz, Leber und Herzblut waren keimfrei, bei der anderen wuchsen aus der Milz 2 Kolonieen, während die Züchtung von Oedem, Leber und Blut ergebnislos blieb. Alle Kolonieen wuchsen, auf Serum übertragen, kapsellos.

Maus 4 erhielt 0,1 ccm der aus Milz von Maus 3 erhaltenen Serumkultur (also 2. Mäusepassage) unter die Haut.

11. Nov. Deutliches Oedem mit meist einzeln liegenden, kapsellosen Bacillen, die Platte liefert etwa 500 Kolonieen, von denen 12, auf Serum übertragen, kapsellos wuchsen. Am 12. Nov. erschien die Maus krank, hatte derbes Oedem mit zahlreichen, durchaus kapsellosen Bacillen und wurde am Abend schwerkrank getötet. Das reichliche Oedem enthielt viel Bacillen, einzeln oder in kurzen Ketten, meist gut gefärbt, seltener gequollen oder unregelmäßig spindelig aufgetrieben, durchaus ohne Kapseln. Die Milz war klein und blaß und enthielt sehr spärlich kapsellose Bacillen; in Leber und Herzblut wurden sie nicht gefunden. Auf Agar gingen aus Oedem zahlreiche, aus ungefähr der halben ausgestrichenen Milz etwa 400, aus der Leber 42, aus Herzblut 81 Kolonieen auf. Sämtliche davon auf Serum überimpfte Kolonieen wuchsen kapsellos (im ganzen 40).

Maus 5 erhielt 0,01 ccm einer aus dem Herzblute von Maus 4, Kolonie 6 stammenden Serumkultur unter die Haut (14. Nov.)

15. Nov. ohne deutliche Erscheinungen.

16. Nov. Kein großes, aber deutliches derbes Oedem, mikroskopisch ohne Befund, auf Agar 55 Kolonieen, von denen 12, auf Agar übertragen, kapsellos wachsen.

17. Nov. Oedem stärker, derb, in geringer Zahl kapsellose Stäbchen; auf Agar 40 Kolonieen, neben fremden Bakterien; 15 auf Serum durchaus kapsellos.

18. Nov. Vergrößert, ziemlich viel Leukocyten, keine Bacillen; auf Agar nur 2 Kolonieen, neben zahlreichen Kokken; ergeben kapselloses Wachstum.

Am 19. Nov. hat sich das Oedem sehr ausgebreitet, die Maus ist schwerkrank, stirbt am Abend. Das Oedem nimmt den größten Teil des Körpers ein, hat nur wenige Zellen, zahlreiche Kokken, wenige durchaus kapsellose, gutgefärbte Milzbrandbacillen. Die Milz ist klein und blaß, ergibt mikroskopisch ebensowenig wie Leber und Herzblut Bacillenbefund. Auf Agar wachsen sowohl aus Oedem, wie den Organen und Herzblut Kokken; daneben aus Oedem 40, Milz 5, Leber 2, Herzblut keine Milzbrandbacillen. Alle Kolonieen, auf Serum übertragen, ergeben kapselloses Wachstum.

Maus 6 erhielt eine Aufschwemmung aus einer großen Kolonie der Agarplatte aus Milz der Maus 5 (0,2 ccm stark trübe Aufschwemmung) unter die Haut. Blieb andauernd ohne Krankheit.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Maus 7 erhielt 0,5 ccm Serumkultur A 4. Mäusepassage unter die Haut, ohne Erfolg. Maus 8 erhielt den Satz von 1,2 ccm Serumkultur A 4. Mäusepassage, ebenfalls ohne irgendwelche Krankheit zu zeigen.

Die Versuchsreihe zeigt zunächst wieder aufs sicherste, daß ein tagelanger Aufenthalt der kapsellosen Bacillen im Körper des empfindlichsten Versuchstieres zur Wiedererlangung der Kapsel nicht geführt hat; auch der soweit als möglich durchgeführte Durchgang durch mehrere Tiere, nur unterbrochen durch die notwendige Aussonderung auf Agarplatten, hat keinen Erfolg gehabt. Ebensowenig wie die Kapselbildung hat sich die verlorene Infektiosität herstellen lassen, wieder ein Beweis der engen Korrelation beider Eigenschaften.

Von größtem Interesse ist aber die Erscheinung, daß der Stamm A doch noch eine gewisse krankmachende Wirkung auf die Maus hat. Abgesehen von der Oedembildung, welche hier ebenso wie beim Meerschweinchen und Kaninchen hervortritt, sind ohne Zweifel einige der Versuchstiere an einer ganz besonderen Form des Milzbrandes zugrunde gegangen. Mit dem regelrechten Milzbrand hat sie allerdings nur die Oedembildung gemein, während die so bezeichnende Milzvergrößerung durchweg fehlte; auch zur Ausbildung einer wirklichen Sepsis im Blute kam es nicht, höchstens bei Maus 4 ist davon eine Andeutung zu spüren. Das ganze Bild spricht sehr für eine Vergiftung, bei geringster Vermehrung der eingeführten Bakterien, und erinnert einigermaßen an die Krankheit und den Tod, den man durch größere Milzbrandmengen bei grauen oder alten weißen Ratten gelegentlich erzielen kann, die mit Oedem von zunehmender Ausdehnung tagelang in einem schläfrigen Zustande leben. Da es schien, als ob namentlich Serumkulturen giftig wirkten, wurde der Versuch gemacht, einerseits solche Kulturen, andererseits die aus ihnen durch Ausschleudern gewonnenen Bakterienmassen gesondert einzuimpfen (Maus 7 und 8). Er gelang nicht, weil die Fortzüchtung im Tierkörper nicht nur keine Steigerung, sondern eine unverkennbare Verminderung des verbliebenen Restes krankmachender Wirkungen herbeigeführt hatte. Schon nach der 1. Mäuseimpfung ging die zweite erst bei Wiederholung mit der Menge von $^1/_2$ ccm Serumkultur an und tötete die Mäuse fast ohne Bakterienvermehrung. Die so erhaltene Zucht der 2. Passage schien bei Maus 4 eine mehr aggressive Wirkung zu besitzen, und 0,01 ccm der daraus gewonnenen 3. Passage führte den Tod von Maus 5 herbei, allerdings wieder bei allergeringster Vermehrung und noch dazu bei Mischinfektion mit Kokken, die zwar in Reinzucht auf Kontrollmäuse bei Einspritzung von $^1/_2$ ccm Bouillonkultur nicht die geringste Wirkung ausübten, aber in dem durch Milzbrand geschwächten Körper von Maus 5 doch zur Durchwachsung des ganzen Tieres gelangt waren. Die aus dieser Maus gewonnene 4. Passage war bei 3 Mäusen nicht mehr zum Wachstum zu bringen. Nach diesem Ergebnisse steht es vollständig fest, daß Verlust von Kapselbildungsvermögen in Serumkulturen gleichbedeutend ist mit dem Verschwinden der Fähigkeit, im Tierkörper überhaupt noch zur Entwickelung zu gelangen. Beide Verluste sind beständig, und es hat sich bisher keine Möglichkeit ergeben, die „Verlustmutante“ wieder zur Ausgangsform zurückzubringen.

Es mußte von Wichtigkeit sein, diese Versuche zu wiederholen, also auf dem Wege der gleichen oder ähnlichen Einwirkung, die zur Gewinnung des Stammes A geführt hatte, oder auf einem anderen zu

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zeigen, daß sich halbwegs regelmäßig derart abweichende Stämme gewinnen lassen.

Zu diesem Zwecke wurde eine vollständig bekapselte Schweineserumkultur des Ausgangsstammes, abgeimpft von einer einzelnen Kolonie auf Agar, verschiedene Zeiten lang auf 44—45° erwärmt.

Platte mit unverändertem Ausgangsmaterial; sehr zahlreiche Kolonieen, von denen 10, auf Serum überimpft, vollständig kapselhaltig wuchsen.

Nach 1 Stunde 44—45°: 1100 Kolonieen, davon 16 auf Serum übertragen, sämtlich mit Kapseln.

Nach 2 Stunden 44—45°: 101 Kolonieen, davon 40 auf Serum übertragen, sämtlich mit Kapseln.

Nach 6 Stunden 44—45°: 74 Kolonieen, davon 12 auf Serum übertragen, sämtlich mit Kapseln.

Die Probe bleibt über Nacht bei Zimmertemperatur stehen und wird dann nochmals erwärmt.

Nach 9 Stunden bei 44—45°: 44 Kolonieen, davon 39 auf Serum übertragen; nach 12 Stunden bei 44—45°: 3 Kolonieen, sämtlich auf Serum übertragen.

Von den Serumkulturen der 12-stündigen Reihe wuchs eine sofort rein tierisch, zwei andere wiesen neben tierischen sehr zahlreiche kapsellose Kulturformen auf; bei der Weiterimpfung bis zur 5. Serumzucht nahm die Zahl der bekapselten Bakterien immer mehr zu, und in der 5. lag rein tierischer Milzbrand vor. Ueber weitere Versuche mit diesen Kulturen siehe weiter unten.

Von den 39 Serumkulturen der 9-stündigen Reihe wuchsen 38 sofort rein tierisch, eine aber (No. 7) zeigte bei schwachem Wachstum fast nur Fäden aus dicken, aber kapselfreien Gliedern, in denen sich nur selten und dann oft mitten im Verlauf eines ganz kapsellosen Fadens ein Ansatz zur Kapselbildung zeigte. Die 2. Serumkultur ergab nur kapsellose Bacillen, ebenso die 3. Bei der 4. traten wieder vereinzelte Kapseln auf, die sich in der 5. und 6. erhielten; die 7., 8., 9. und 10. enthielten nur reine Kulturfäden, die 11. enthielt einige regelrechte tierische Fäden, während die davon abgeimpfte 12. wieder kapselfrei war. 13 zeigte nur einzelne Kapseln mitten im Verlauf sonst ganz kapselloser Fäden, ebenso 15, während die dazwischen liegende Kultur 14 ganz kapsellos war. 16 und 17 verhielten sich wie 14; 18 und 19 wuchsen ganz ohne Kapseln, während von da an bis zur 25. Zucht das Bild unverändert weitaus überwiegend ganz kapsellose Kulturfäden aufwies, denen aber immer vereinzelte Kapselbildungen beigemischt waren, sei es, daß diese einzeln liegende Stäbchen betrafen, sei es, daß am Ende oder mitten im Verlauf eines Kulturfadens sich eine Kapsel gebildet hatte. Es konnte keinem Zweifel unterliegen, daß hier ein Stamm herangebildet war, der erblich und beständig in seiner Kapselbildung derart geschwächt ist, daß er sie durch bloße Fortzüchtung im Serum nicht vollständig wiederzuerlangen vermag, wie dies sonst früher bei ähnlichen Stämmen und auch denen der vorerwähnten 12-stündigen Reihe der Fall war. Hingegen ließ Meerschweinchenimpfung, die aber bisher nur an 2 Tieren durchgeführt ist, die Kapselbildung wieder entstehen. Die mit 0,05 und 0,2 ccm einer anscheinend kapselfreien Serumkultur geimpften Tiere lebten länger als gewöhnlich (5—6 Tage), zeigten schon am Tage nach der Impfung Oedeme, aus denen sich erst am 2. und 3. Tage Bacillen gewinnen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ließen, die sich als rein tierisch verhielten. Der schließlich eingetretene Tod war regelrechter Milzbrandtod mit stärkster Vermehrung der Bacillen in Blut und Organen.

Um zu sehen, ob in dieser merkwürdigen Kultur Stämme mit verschiedenem Kapselbildungsvermögen vereint seien, wurden aus der 1. Serumzucht Agarplatten angelegt und von diesen 15 Einzelkolonieen in Serum übertragen. Alle Serumzuchten zeigten das gleiche Verhalten weitaus überwiegender, kapselloser Kulturformen mit seltenen Bildungen von Kapseln an einzelnen Bakterien oder Fäden.

Um die gleiche Schädlichkeit, welche zur Abschwächung der Kapselbildung geführt hatte, nunmehr auf den veränderten, abgeschwächten Stamm einwirken zu lassen, wurde die 1. Serumzucht durch 5 Stunden bei 44° gehalten. 10 auf Agarplatte ausgesonderte Kolonieen wuchsen aber auf Serum wieder gemischt mit Ueberwiegen von Kulturformen. Weitere Aussonderungen von mehreren Kolonieen auf Agarplatten und Serumzucht hatten stets das gleiche Ergebnis gemischten Wachstums, wobei über 400 Einzelzuchten untersucht wurden, so daß bei diesem, als C bezeichneten Stamm eine ständige, aber nur teilweise Verlustmutation vorliegt. Wahrscheinlich beziehen sich die Angaben der älteren Literatur, wonach abgeschwächte Stämme, die in der Regel Tiere nicht mehr töten, nach einer doch geglückten Tierimpfung die frühere Infektiosität wiedererlangen, auf ähnliche Stämme. Sie treten nach Erhitzung nicht gar selten auf; doch erweist sich eine längere Züchtung in Serum in der Regel als genügender Reiz zum Rückschlage in die ursprüngliche Form. Beim Stamm C ist die Schädigung durch Erhitzen aber tiefer gegangen, so daß ohne Tierversuch, durch den allein der Reiz zur Kapselbildung erfolgt, diese nicht wieder in vollendeter Weise erlangt werden kann. Der Umstand, daß es solche Stämme gibt, spricht übrigens deutlich dafür, daß das Auftreten kapselloser Abarten des Milzbrandes doch nicht so urplötzlich, als reine Mutation erfolgt, wie dies ähnlich auch Toenniessen für Friedländer-Bacillen annimmt; es kann Zwischenstufen im Kapselerzeugungsvermögen geben, und es läßt sich unschwer vorstellen, daß einzelne Individuen während der Erhitzungsdauer auf 44—45° erst nach und nach ganz abgeschwächt werden. Bei der ungeheuren Zahl von Einzelbacillen, welche man zum Versuche benutzen muß, ist es natürlich Zufallssache, gerade derartige Zustände zu bekommen.

Wenn wirklich ein teilweiser Kapselverlust, der erblich in mehr oder minder beständiger Weise festgehalten wird, eine Vorstufe des gänzlichen und andauernden ist, so mußte Weiterwirken der gleichen Schädlichkeit zum vollständigen Verluste führen. Wie bereits bemerkt, ist ein derartiger Versuch mit Stamm C bisher nicht gelungen, wohl aber gelang er mit der oben erwähnten Reihe von 3 Kolonieen, welche nach 12-stündiger Erhitzung auf 44° noch aufgegangen waren. Von diesen wuchsen 2 gemischt, so daß bei Weiterzüchtung auf Serum die tierischen Formen immer mehr zunahmen und in der 5. Serumzucht rein vorhanden waren. Die 2. Serumzucht der einen Kolonie wurde zunächst auf Agar ausgestrichen und dann 4 und 8 Stunden auf 44—45° erwärmt.

Die Platte von der Ausgangszucht lieferte etwa 3000 Kolonieen für die Oese, von denen 24, in Serum überimpft, kapselhaltig wuchsen; die Zahl der beigemischten nackten Fäden war so gering, daß sie wahrscheinlich nur auf eine Erschöpfung des Serums zu beziehen waren.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das Ergebnis zeigt übrigens, daß von den Bakterien der Serumzucht, die mikroskopisch noch ein sehr gemischtes Bild von kapselhaltigen und kapsellosen Formen darbot, doch schon sehr viele rein tierisch geworden waren.

Die Platte nach 8-stündiger Erwärmung ergab in ebenfalls 24 abgeimpften Kolonieen den gleichen Befund. Die 24 von der Platte nach 4-stündiger Erhitzung (insgesamt 216 Kolonieen) erhaltenen Serumzuchten zeigten bei 23 rein tierische Entwickelung, während eine (No. 8) ausschließlich dicke Bacillen ohne jede Kapselbildung aufwies, was bei ununterbrochener Weiterzüchtung auf Serum in 18 Zuchten unveränderlich war; auch seither haben die Abimpfungen von der aufbewahrten und weitergeführten Agarkultur stets Kapselfreiheit ergeben. Gleich mit der ersten kapselfreien Serumzucht war eine Platte angelegt und 12 der daranf aufgegangenen Kolonieen auf Serum übertragen worden; überall war vollkommene Kapselfreiheit vorhanden. Der Meerschweinchenversuch ergab in Uebereinstimmung damit fehlende Infektiosität bei erhaltener Fähigkeit, Oedeme nach Hautimpfung hervorzurufen, Mäuse starben zuerst.

Maus 1 erhielt 0,2 ccm der 3. Serumzucht unter die Haut. 21. Okt.

22. Okt. Deutliches Oedem mit wenig Leukocyten in starker Phagocytose; freie Bacillen so zahlreich, daß sie sich wohl vermehrt haben müssen, meist einzeln oder zu zwei, gut gefärbt, ohne jede Spur von Kapsel. Kultur ergibt etwa 300 Kolonieen, von denen 20, in Serum übertragen, ohne Ausnahme kapselfrei wuchsen.

23. Okt. Oedem mehr ausgebreitet, aber derber; mäßig viel Leukocyten ohne Phagocytose, freie Bacillen zahlreich, meist einzeln, ohne Kapseln. Das Tier erschien matt und schläfrig und blieb so bis zum Tode 57 Stunden nach der Impfung. Die Eröffnung ergab ausgebreitetes saftreiches Oedem, fast zellfrei, mit zahlreichen, durchaus kapsellosen, gutgefärbten Bacillen, die einzeln oder zu zweit liegen, ziemlich dick sind und abgerundete Enden haben. Milz nicht im geringsten vergrößert, enthält spärlich kurze Ketten von dicken, oft quadratischen Gliedern ohne Spur von Kapsel. Ebensolche fanden sich in sehr geringer Zahl in der Leber, nicht im Herzblute. Auf Agarplatten wurden aus Oedem sehr zahlreiche, aus Milz etwa 5000, aus Leber 600, aus Herzblut 41 Kolonieen erhalten. Die daraus angelegten insgesamt 50 Serumzuchten wuchsen ohne Ausnahme kapselfrei.

Maus 2 erhielt 0,05 ccm einer aus einer Kolonie von Herzblut der Maus 1 angelegten Serumzucht unter die Haut. 26. Okt.

27. Okt. Deutliches Oedem ohne mikroskopischen und Zuchtbefund.

28. Okt. Oedem stärker, enthält wenige Zellen, mäßig zahlreich kapsellose Stäbchen. Agarplatte etwa 1200 Kolonieen, von denen 20 auf Serum kapselfrei wuchsen.

29. Okt. Oedem erscheint derber. Milzbrand mäßig reichlich, kapsellos; auf Platte etwa 1000 Kolonieen, von denen 20 in Serum kapselfrei wuchsen.

30. Okt. Maus matt und schläfrig, stirbt gegen Abend. Reichlich Oedem mit mäßig zahlreichen kapsellosen Bacillen. Milz klein, blaß, darin ebensowenig wie in Leber und Herzblut Bacillen gefunden. Züchtung ergab aus Oedem reichliche, sonst keine Kolonieen.

Maus 3, die gleichzeitig mit Maus 2 die 5fache Menge (0,25 ccm) des gleichen Impfstoffes erhalten hatte, wies genau den gleichen Krankheitsverlauf auf und starb nahezu zur gleichen Zeit. Das Oedem derselben lieferte zahlreiche, Milz (etwa $^1/_4$ des Organs) 2, Leber (korngroßes Stück) 4, Herzblut (7 Oesen) 7 Kolonieen. Weder diese noch die während des Lebens aus Oedem erhaltenen Bakterien zeigten auf Serum Kapselbildung.

Maus 4 erhielt 0,05 ccm Serumzucht aus Milz von Maus 3 unter die Haut. 2. Nov.

3. Nov. Starkes Oedem, ergibt weder mikroskopisch noch bei Züchtung Milzbrand.

4. Nov. Das Tier erscheint krank, matt und schläfrig. Die Züchtung auf Agar mißlang wegen starker Verunreinigung des benutzten Agars, doch waren sicher Milzbrandkolonieen vorhanden.

5. Nov. Das Tier ist seit mehr als 24 Stunden vollkommen schläfrig, Oedem sehr stark, liefert auf Agar etwa 300 Kolonieen, von denen 12 in Serum ganz kapsellos wuchsen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Tod trat in der Nacht vom 5.—6. Nov. ein. Das starke Oedem ergab zahlreiche, die sehr kleine Milz und Leber 40, Herzblut 1 Kolonie von Milzbrand. Bei Uebertragung auf Serum wuchsen alle Kolonieen (insgesamt 40) kapsellos.

Maus 5 erhielt am 6. Nov. fast die halbe Leber von Maus 4 in eine Hauttasche eingenäht, erkrankte nicht und ergab auch von der Impfstelle her kein Milzbraudwachstum.

Maus 6 erhielt am 9. Nov. 0,05 ccm Serumzucht aus einer Kolonie der Milz von Maus 4. Blieb am Leben, ohne je örtliche oder allgemeine Erscheinungen gezeigt zu haben.

Maus 7 erhielt 0,5 ccm Bouillonkultur der 3. Mäusepassage (aus Milz von Maus 4) unter die Haut am 10. Nov.

15. Nov. Nichts Deutliches.

16. Nov. Ziemlich starkes, derbes Oedem, mit Leukocyten ohne Phagocytose. Bacillen ziemlich zahlreich, kapsellos. Agarplatte enthält zahlreiche Kolonieen, davon 12 in Serum kapsellos.

17. Nov. Starkes derbes Oedem, liefert 44 Kolonieen, davon 10 auf Serum kapsellos.

18. Nov. Ebenso; 60 Kolonieen, davon 10 in Serum kapsellos.

19. Nov. Oedem knollig, etwas verkleinert, enthält viel Leukocyten, hier und da mit Phagocytose; keinen freien Milzbrandbacillen. Auf Agar 51 Kolonieen, davon 10 auf Serum kapsellos.

20. Nov. Knollig-derbes Oedem, viel Leukocyten, keine Bacillen. Auf Agar 27 Kolonieen, davon 10 in Serum kapselfrei.

21. Nov. Oedem wie früher; das Tier hat sehr starke Diarrhöe. Auf Agar finden sich zahlreiche Kolonieen.

Der Tod erfolgte in der Nacht des 21.—22. Nov. Das Oedem ist derb schwartig, dabei sehr leukocytenhaltig und enthielt mikroskopisch wenige milzbrandähnliche Stäbchen neben großen Kokken; es ergab auch auf Agar wenige Kolonieen Milzbrand, während die nicht vergrößerte Milz, die Leber und das Herzblut keimfrei waren.

Maus 8 erhielt 0,25 ccm Serumzucht der 4. Mäusepaasage (aus Oedem von Maus 7 am 20. Nov. aufgegangene Kolonie) unter die Haut, 22. Nov.

23. Nov. Spur Oedem; Züchtung ergebnislos.

24. Nov. Starkes Oedem mit mäßig zahlreichen, kapsellosen Bacillen; auf Agar zahlreiche Kolonieen, davon 10 in Serum kapsellos.

25. Nov. Oedem sehr groß, mikroskopisch mäßig zahlreiche kapsellose Bacillen; 10 Kolonieen von Agarplatte wachsen in Serum durchaus kapselfrei.

26. Nov. Tier krank und schläfrig, stirbt nachmittags. Oedem saftreich, fast ohne Zellen, mit zahlreichen, gänzlich kapsellosen Bacillen; Milz dunkel, aber klein, ohne sichtbare Bacillen; ebensowenig fanden sich solche in Leber und Herzblut. Auf Platten wuchsen aus Oedem zahlreiche, aus Milz (etwa $^1/_4$ Organ) 42, aus Lebsr 15, aus Herzblut (4 Oesen) 2 Kolonieen. Uebertragungen in Serum 42, aus Leber 15, aus Herzblut (4 Oesen) 2 Kolonieen. Uebertragungen in Serum (insgesamt 40) ergaben ganz kapselfreies Wachstum.

Maus 9 erhielt 0,1 ccm Serumzucht aus Maus 8 unter die Haut und erkrankte nicht.

Maus 10 erhielt 0,25 ccm Serumzucht der 5. Mäusepassage (über Agar) und zeigte ebenfalls nichts Krankhaftes.

Die Mäuseversuche mit diesem Stamme D zeigen sehr viel Aehnlichkeit mit denen des Stammes A. Auch hier schien anfangs eine Steigerung der krank machenden Wirkung einzutreten, die aber bald aufhörte. Maus 4 war nach Impfung mit 0,05 ccm Serumzucht noch gestorben; die folgende, mit ebensoviel der aus Maus 4 erhaltenen Zucht geimpfte Maus erkrankte nicht mehr. Durch Anwendung von 0,5 ccm Bouillonkultur konnte zwar wieder der Tod der Maus 7 erzwungen werden, aber er trat sehr spät ein, und der Schlußverlauf der Krankheit ist nicht ganz einwandfrei. Daraus erhaltene Zuchten blieben mit 0,1 und 0,25 ccm wirkungslos, und es hatte keinen Zweck, noch höhere Gaben anzuwenden. Organübertragung bei Maus 5 hatte keine Infektion zur Folge.

Sicher ist jedenfalls wieder, daß dem kapsellosen Milzbrand noch eine ganz geringe Wirkung gegenüber dem Mäusekörper zukommt, die aber mit der des unabgeschwächten Milzbrandes weder der Art, noch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Impfmenge nach zu vergleichen ist, und daß der selbst tagelange Aufenthalt der Bacillen in der Maus die Kapselbildung nicht wiederhergesstellt hat.

Meerschweinchen 1 erhielt 21. Okt. 0,2 ccm der 3. Serumgeneration seit Ausbildung des Stammes unter die Haut.

22. Okt. Deutliches Oedem, zellfrei; Bacillen ohne Mühe zu finden, kapsellos; auf Platte etwa 400 Milzbrandkolonieen neben gelben Staphylokokken, wovon 15 im Serum kapselfrei wuchsen.

23. Okt. Oedem verkleinert, derb; auf Agarplatten einige Kokken, keine Milzbrandkolonieen.

24. Okt. Oedem, ohne Spuren zurückzulassen, verschwunden.

2. Nov. Erhält 1 ccm Serumzucht der 3. Mäusepassage unter die Haut.

3. Nov. Starkes, weiches Oedem; Bacillen spärlich, kapsellos. Auf Platte 50 Kolonieen, davon 10 in Serum kapsellos.

4. Nov. Oedem über den ganzen Bauch verbreitet, mit Leukocyten, von denen viele stärkste Phagocytose zeigen; keine freien Bacillen; auf Agar kein Milzbrand erhalten.

5. Nov. Oedem kleiner, derb, ergibt außer einigen Kokken 4 Milzbrandkolonieen, die auf Serum ganz kapselfrei wuchsen.

6. Nov. Sehr verkleinert, derber Knoten, viel Leukocyten, davon einer mit Phagocytose. Auf Agar ließ sich nur eine Kolonie erhalten, die kapsellos wuchs.

Meerschweinchen 2 erhielt 0,5 ccm Serumzucht der 4. Mäusepassage unter die Haut. Es bildete sich Oedem, das fast 10 Tage lang bestand und aus dem sich täglich Milzbrand züchten ließ. Keine der 58 angelegten Serumzuchten wies auch nur Spuren von Kapselbildung auf.

Ganz wie im Mäusekörper treten auch im Meerschweinchen die Kapseln nicht mehr auf, obwohl sich die Milzbrandbacillen tagelang erhalten, anscheineud auch, wenn auch nur im geringstem Grade, vermehren und zur Bildung von Oedem führen. Es kann somit als erwiesen angesehen werden, daß ein seiner Kapselbildung sicher beraubter Milzbrandstamm durch kein Mittel mehr sie wieder erhalten kann.

Von sonstigen, bei diesen Untersuchungen ermittelten Befunden sei kurz eine Wachstumsveränderung erwähnt, die nach 6 Wochen langer Züchtung in einer Bouillon mit 10 Proz. Rohrzucker eintrat. Die Kolonieen erschienen auf der Agarplatte scharf rund, mit einem Durchmesser von etwa 2 mm, halbkugelig, und zwar noch mit der chagrinierten Oberfläche der Milzbrandkolonieen, aber gleichzeitig mit einem stark hervortretenden, wachsartigen Glanze, der sie ganz auffallend vom echtem Milzbrand unterschied. Diese Wuchsform hielt sich auf der 2. Platte unverändert und trat auch im Agarstrich hervor; in Bouillon war das gewöhnliche Wachstum zu sehen. Auf Serum übertragen, erschienen sofort tierische, kapseltragende Formen, und Rücküberimpfung von da auf Agarplatten ergab sofort wieder die gewöhnliche Wuchsform, die sich auch bei einfacher Weiterzüchtung auf Agar, aber erst nach 4 Wiederholungen, allmählich einstellte. Es handelte sich somit um eine zwar sehr auffallende, aber schnell vorübergehende Modifikation, die um so bemerkenswerter ist, als sie mit keiner Aenderung der Kapselbildung einherging, während umgekehrt die so tiefgreifend veränderten Stämme A, C, D im Wachstum sich vom typischen Milzbrand gar nicht unterscheiden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Bedeutung des Pleomorphismus bei der Identifikation und Klassifikation des Streptobacillus pellagrae (T.).

Von Prof. **G. Tizzoni** und Dr. **G. De Angelis.**

(Zusammenfassung der Autoren).

In einer in Heft 8 der Zeitschrift „Malaria e malattie dei paesi caldi" V. Jahrg., August 1914, und in Bd. 15. Heft 15. Ser. 5 der „Memoria della R. Accademia dei Lincei" veröffentlichten Abhandlung studieren G. Tizzoni und G. De Angelis die phytogenetischen Abstammung des pleomorphen Streptobacillus der Pellagra und weisen nach, daß dieser Mikroorganismus im Zusammenhang mit der Zusammen setzung des Nährbodens, in dem er kultiviert wird, Aenderungen in seiner Form und in seinen biologischen Eigenschaften erleidet und in seiner höchst entwickelten Form Figuren aufweist, die denen der niederen Hyphomyceten gleichen, weshalb er ihnen gegenübergestellt wird.

Der fragliche Mikroorganismus zeigt sich in seiner parasitären Form, wie er angetroffen wird, wenn man das gehörig vom Serum befreite Blut der Pellagrakranken in den gewöhnlichen Nährsubstraten kultiviert, in drei verschiedenen Typen, nämlich:

1) Typus A in Streptococcus-Form,

2) Typus A in Bacillenform, mit kurzen, dünnen Bacillen, der Größe nach ähnlich denen der Influenza, in charakteristischer palisadenartiger Anordnung.

3) Typus B mit staphylococcusartiger Anordnung.

In den jungen Kulturen kann man sich leicht überzeugen, daß die vermeinten Streptokokkenketten nichts weiter sind als Bacillen oder kurze Fäden, deren Protoplasma sich in kokkenförmige Blöcke geteilt hat und so Pseudostreptokokkenketten bildet.

Die Form B ist die höchst entwickelte von den dreien und am wenigsten beständig; bei dieser wie bei der Staphylococcus-Form kann man eine Andeutung zur Entwicklung und zum Wachstum dieses Mikroorganismus durch Ausstülpung und Verlängerung des Protoplasmas aus dickeren und stärker gefärbten Elementen wie die gewöhnlichen sehen, von kugeliger oder ovaler Form, die die Autoren als Sporenkörper bezeichnen, insofern als sie die Funktion von Sporen für die Fortpflanzung und Erhaltung der Art, wenn auch nicht alle morphologischen Attribute solcher haben.

Die höchstentwickelten Formen werden durch Züchten des Streptobacillus in besonderen, ausschließlich aus Salzen und Kohlehydraten bestehenden Nährböden erhalten, in denen dieser Keim sich sehr langsam vermehrt.

In solchen Kulturen (die ersten Phasen können auch im Kondensationswasser der Kartoffel beobachtet werden, wie Dr. Alfeewsky nachgewiesen hat) läßt sich die Vermehrung des fraglichen Keimes durch Sporenkörper, die Anwesenheit von kolbenförmigen Bacillen, die Bildung von wahren Verzweigungen sowohl bei den Kokkenformen wie bei den Bacillenformen, die Bildung von langen Fäden mit regelmäßig in Blöcke von Kokkenbacillen- oder Mischform geteiltem Protoplasma und endlich

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Bildung von Fäden vom Mycelientypus, die eine eigene Wand und ein Protoplasma aufweisen, das bald Involutionsprozesse der Erosion, Vakuolisierung, Zerstörung erleidet, und die in den vorgeschrittensten Graden ein reiches Netz mit sphärischen Endkörpern bilden, besser nachweisen.

Das Fehlen fixer Reproduktionsformen erlaubt nicht, diesen Mikroorganismus direkt unter die niederen Hyphomyceten zu klassifizieren, gestattet aber, die beschriebenen höchstentwickelten Formen als phylogenetische Anklänge speziell an die Actinomyceten zu betrachten.

Jedenfalls begründen diese Zusammenhänge vollkommen den Pleomorphismus, der bei seiner parasitären Form beobachtet wird, setzen scharf seine systematische Stellung fest, indem sie den Streptobacillus der Pellagra als einen Schizomyces sui generis betrachten lassen, und erlauben eine klare Unterscheidung desselben von anderen Mikroorganismen, wie den Streptokokken und den Staphylokokken, mit denen er bei oberflächlicher Beobachtung und bei alleiniger Berücksichtigung der Aeußerlichkeiten verwechselt werden könnte.

Nachdruck verboten.

Die Pellagra in Bessarabien.

Vorläufige Mitteilung.

Von Prof. **Guido Tizzoni**, Bologna.

Durch die Liebenswürdigkeit der Direktion des Institutes für die Behandlung der Geisteskrankheiten in Kostiugeny (Kischinew), der ich öffentlich danke, und durch die fleißige und intelligente Unterstützung von Dr. N. Alfejewsky, Prosektor des Instituts, und von Frau Dr. V. Taracevitch ist es mir möglich gewesen, eine kurze Untersuchung über die Pellagra in Bessarabien auszuführen, die unglücklicherweise durch den gegenwärtigen Kriegszustand unterbrochen wurde. In Erwartung einer ausführlicheren und vollständigeren Mitteilung beeile ich mich indessen, hier über die Hauptresultate zu berichten.

Durch das von Dr. Grinfeld, Dragoeff, Binnert und Morósov, Kreisarzt von Kischinew, freundlichst mir zur Verfügung gestellte Material habe ich zwölf Pellagrakranke mit Reakutisierung der Krankheit in verschiedenen Stadien studieren können. Außerdem habe ich das Material von zwei interessanten Sektionen Pellagrakranker benutzen können.

Die bakteriologische Untersuchung wurde stets am durchaus aseptisch aus der Vene der Ellenbeuge mittelst Tursini'scher Spritze mit fester Nadel entnommenen Blut ausgeführt; überdies in einem sehr schweren Fall (Slobodenjuk) an der unter den nötigen Kautelen mittels Lumbalpunktion nach Quincke gewonnenen Cerebrospinalflüssigkeit; endlich an dem aus der Vena cava entnommenen Blut, an der aus den seitlichen Ventrikeln aspirierten Cerebrospinalflüssigkeit und an Organstückchen (Milz, Leber, Nieren) aus der wenige Stunden nach dem Tode zur Sektion gebrachten Leiche.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Hauptschlüsse, die ich schon jetzt formulieren kann, sind folgende:

1) In sämtlichen untersuchten Fällen, mit Einschluß einer Form von Dementia, bei der seit ca. 15 Monaten Erscheinungen der Reakutisierung der Krankheit fehlten (Minus), ist im Blut des Kranken stets der von mir beschriebene pleomorphe Streptobacillus in Reinkultur gefunden worden; es ist somit außer Zweifel, daß der Pellagra in Bessarabien dieselbe Ursache, der nämliche Erreger zukommt wie in Italien.

2) Die gleichen Resultate werden sowohl mit dem Material aus dem Lebenden (Blut, Cerebrospinalflüssigkeit) wie mit dem wenige Stunden nach dem Tode aus der Leiche entnommenen erhalten.

3) Wie zuerst Alfejewsky nachgewiesen und wie ich in zwei Fällen bestätigen konnte, werden nach Form, Größe und Anordnung gleiche Mikroorganismen wie die aus dem Blut von Kranken kultivierten auch in den direkt aus der Milz und den anderen Organen hergestellten Ausstrichpräparaten gesehen.

4) Die gefundenen Mikroorganismen gehören den von mir beschriebenen drei Varietäten an: der Bacillus-, Streptococcus- und Staphylococcus-Varietät.

5) Aus dem Gesamtbild der bakteriologischen Untersuchung ergibt sich, daß in Bessarabien, gegenüber Italien, der Typus A häufiger ist als der Typus B, und zwar sowohl bei der Streptococcus-Form wie bei der Bacillus-Form; dies steht offenbar im Zusammenhang mit der erwiesenen größeren Schwere der Krankheit.

6) Auch in den in Bessarabien erhaltenen Kulturen bilden der Polymorphismus dieses Keimes und seine leichte Variabilität eine der Hauptcharakteristiken desselben.

7) Von den beiden Typen A und B zeigt der Typus A zweifellos die größte Veränderlichkeit.

8) In einigen Fällen kann sich im Blut der Mischtypus A—B und in der aus dem Lebenden durch Lumbalpunktion gewonnenen Cerebrospinalflüssigkeit nur der Typus B finden (Slobodenjuk).

9) Mit der Verschlimmerung der Krankheit kann der weiße Typus B, der in dem aus der Armvene entnommenen Blut gefunden wurde, seine Farbe verändern (Ursu) und gelb werden in der Leiche, aus welchem Teil er auch immer isoliert worden sein mag (Blut der Vena cava, Cerebrospinalflüssigkeit, Organe). Dies bestätigt, daß der Typus B gelb ein stärkeres pathogenes Vermögen besitzt als der entsprechende weiße ebenso wie er ein stärkeres auflösendes Vermögen auf Gelatine und fermentatives auf Zucker hat.

10) Die morphologischen, kulturellen und biologischen Eigenschaften dieses Mikroorganismus sind identisch mit den früher von mir beschriebenen.

11) Bei der größeren Schwere der Krankheit gelingt es in Bessarabien bedeutend leichter, und ohne besondere Nährböden benutzen zu müssen, mit frischen Kulturen phytogenetische Anklänge oder Zusammenhänge mit den niederen Hyphomyceten zu erhalten, als bei seit längerer Zeit in saprophytischer Lebensweise gehaltenen Kulturen, wie bei meinen früheren Studien, beobachtet werden kann.

12) In einem Fall (Ursu), bei dem die Kultur im Tiere versucht wurde, konnte ich deren pathogene Wirkung erweisen, die gleich der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der italienischen Stämme ist. Weiter ist der Mikroorganismus hervorragend toxisch, da das Kaninchen, dem unter die Dura mater $^1/_{15}$ mit Salzwasser verdünnter Agarkultur, gewonnen aus der aus der Leiche (Ursu) entnommenen Cerebrospinalflüssigkeit, injiziert worden waren, in 4—5 Stunden verendete.

13) Noch deutlicher als bei den früheren hat sich bei diesen Beobachtungen, und zwar sowohl durch direkte wie durch indirekte Proben die inhibierende Wirkung des Residualserums auf die Entwicklung der Kultur herausgestellt, so daß eine mäßige Verdünnung des Koagels und Sediments mit gewöhnlicher Rinderbouillon (70—80 ccm) der vollständigen Entfernung des Serums, mit derselben Bouillon steril durch 1—2 Auswaschungen erhalten, nicht gleichkam. Dies bildet vielleicht bei der Gewinnung einer positiven Kultur aus dem Blut die Hauptschwierigkeit für denjenigen, der nicht genügend Uebung in derartigen Untersuchungen hat.

14) Die inhibierende Wirkung des Serums ist um so geringer, je schwerer und frischer die Krankheit ist; gleich Null bei dem aus der Leiche entnommenen Material.

Nachdruck verboten.

Sur la réaction de Wassermann dans le typhus exanthématique.

[Services sanitaires d'Alexandrie (Egypte); Directeur: le Prof. E. Gotschlich.]

Par **Constantin Delta,** Chef du Laboratoire d'Hygiène.

En janvier 1914 une épidémie de typhus exanthématique commençait à Alexandrie. Déjà plusieurs cas avaient été admis à l'hôpital du Gouvernement quand à l'occasion du premier décès survenu, grâce à quoi il fut possible d'avoir un antigène spécifique, l'on décida de rechercher systématiquement la réaction de fixation du complément dans la maladie en question.

Une pareille recherche a été faite pour la première fois par Cathoire en 1910, portant sur quinze cas qui tous donnèrent des résultats positifs. Toutefois la technique de Cathoire paraîtrait de nos jours tout-à-fait insuffisante, autant qu'on en peut juger par un simple référat (Bull. de l'Inst. Pasteur. 1910). Depuis cette première communication rien n'a été publié sur le même sujet, du moins à notre connaissance, si ce n'est tout dernièrement un article de Brauer (Hamburg. med. Ueberseehefte. 1914. No. 15) sur les cas de typhus observés par lui à Hambourg. Relativement à la question qui nous occupe, Brauer se contente de dire, sans plus, qu'il a trouvé le W. constamment positif. Il est probable qu'il en parle avec plus de détails dans une étude parue dans les Beitr. z. Klin. d. Infektionskrankh. Vol. 3, que nous n'avons malheureusement pas entre les mains, et dont l'article cité plus haut n'est qu'un court résumé. Nous ne citons que pour mémoire un travail de Rabinowitsch (Deutsch. med. Wochenschr. 1912) sur la fixation du complément dans le typhus exanthématique. Dans ce travail l'auteur envisage la fixation du

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

complément par rapport au Diplococcus exanthematicus qu'il considère comme l'agent pathogène du typhus. Son point de vue est par conséquent différent du nôtre.

Nous avons commencé par rechercher la réaction de fixation dans onze cas au sujet desquels aucun doute n'était possible quant à leur diagnostic clinique. Tous sans exception donnèrent des réactions positives. Mais les examens qui suivirent ne montrèrent plus une pareille constance dans les résultats: nombreux furent bientôt les résultats négatifs. Il ne fut pas toutefois difficile de démêler les raisons de cette contradiction. Les onze cas examinés en premier lieu comprenaient quatre malades déjà guéris, quatre en convalescence, un dont la température tomba le lendemain du jour où l'examen fut pratiqué, et deux seulement qui eurent de la fièvre pendant quatre (resp. cinq) jours encore. Par contre les examens qui suivirent furent faits sur des malades dont plusieurs se trouvaient au début de leur maladie ou en un point rapproché de lui. Il est plausible d'admettre, pour ces cas, que les réactions négatives étaient dues au fait que les substances par quoi s'obtiennent les réactions positives, n'étaient pas encore formées. Cette hypothèse s'appuie sur des faits. Les examens de Cathoire, tous positifs, furent faits le quinzième jour seulement de la maladie, et Jacobowitz étudiant dernièrement le W. dans la scarlatine concluait qu'il n'est réalisable qu'à la fin de la maladie. Il se peut que cette explication ne convienne pas à tous les cas: quoi qu'il en soit tous les cas qui pendant la période fébrile avaient donné des W. négatifs furent réexaminés après la défervescence. Dans tous la réaction était devenue positive. — Ainsi nous avons recherché le W. dans 42 cas cliniquement typiques. 19 fois le W. fut fait pendant la période fébrile et 7 fois trouvé positif. Ces 7 fois l'examen fut pratiqué 7 (resp. 5, 4, 3) jours avant la défervescence. Les douze réactions négatives faites 14 (resp. 11, 10, 8, 7, 6, 5, 4, 3) jours avant la chute de la température furent répétées (à l'exeption d'une seule, le malade étant mort en pleine période d'état) après la défervescence et trouvées cette fois toutes positives. En outre 6 cas furent examinés la veille (ou l'avant-veille) de la défervescence: chez tous le W. se montra positif. 13 cas ne purent être examinés qu'après la chute de la température: 12 fois la réaction se montra positive; une fois elle se montra constamment négative. Enfin quatre malades chez qui le W. ne put être recherché qu'après leur guérison complète donnèrent des réactions positives. Il peut paraître étrange que nous comptions les jours de maladie à partir de la défervescence. Mais cette pratique est justifiée par le fait auquel nous avons déjà fait allusion, à savoir que dans le typhus exanthématique la réaction de fixation parait liée jusqu'à un certain point à la décroissance des phénomènes aigus; d'un autre côté chez les gens du peuple, en ce pays, l'évaluation du temps et les idées sur les états de santé ou de maladie sont tellement confuses qu'on s'exposerait aux pires erreurs si l'on se basait sur elles pour fixer la date du début d'une maladie commencée hors de l'hôpital. Nous avons pu toutefois suivre trois cas d'un bout de la maladie à l'autre. Le premier fut celui d'une infirmière d'une cinquantaine d'années attachée au service des typhiques. La période fébrile chez elle ne dépassa pas six jours. L'exanthème parut le 2e jour et commença à pâlir le lendemain. Ce fut en somme un cas léger. Le 2e et la 3e jour de la maladie le W. fut négatif; la veille du jour de la défervescence il fut douteux; recherché

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

de nouveau quatre jours après la chute de la température il fut trouvé nettement positif. Le deuxième cas concerne un jeune et vigoureux infirmier du service, également, des typhiques. Chez lui la période fébrile dura 14 jours. Deux fois pratiqué pendant cette période le W. se montra négatif. Trois jours après la défervescence il était positiv. Enfin chez un jeune désinfecteur préposé lui aussi aux cas de typhus, la fièvre dura 15 jours et pendant tout ce temps le W. demeura négatif. Recherché quatre jours après la chute de la température il se montra faiblement positif. Dans ces trois cas il fut possible d'étudier la persistance du W. après la guérison. Chez l'infirmière 30 jours, chez l'infirmier 32 jours après la défervescence le W. fut fait et trouvé négatif. Chez le désinfecteur ce même résultat était obtenu 20 jours après la chute de la température. En revanche chez un des premiers malades qui furent examinés et trouvés positifs la réaction se montrait encore positive, bien que faiblement, un mois et demi après la défervescence, après avoir été, il est vrai, bien plus forte au commencement.

La technique adoptée fut celle du W. à doses d'anticorps constantes (0,1) et d'antigène décroissantes (resp. 0,1, 0,05, 0,02, 0,01). Le sérum hémolytique anti-mouton était employé à une concentration trois fois plus forte que son titre-limite, et chaque fois erythrocytes et complément étaient fraîchement préparés. Dans les réactions pratiquées pendant la période fébrile et trouvées positives, l'hémolyse fut empêchée trois fois dans les deux premiers tubes et trois fois dans le premier seulement. Une fois elle fut empêchée jusque dans le troisième: c'était dans un cas grave. La température était tombée brusquement de 40° à 37,5° le jour où le W. fut fait. Mais le soir du même jour la température remontait de nouveau et le malade mourait six jours plus tard avec 39,5° de fièvre. En général les réactions les plus marquées s'obtinrent un peu après la défervescence, mais même alors nous n'avons vu que cinq fois l'hémolyse empêchée jusque dans le 4e tube. Pour ce qui est de l'intensité de la réaction comparée à celle de la maladie, s'il existe quelque rapport entre elles on peut dire, devant l'irrégularité des résultats qu'il échappe à notre appréciation. Dans les onze premiers cas l'antigène employé provenait de la rate d'un malade mort subitement le 6e jour après la défervescence. On fit macérer, à la T. de 37°, pendant trois jours, l'organe coupé menu, dans de l'alcool absolu. L'antigène ainsi obtenu se montra excellent. En revanche les rates de deux malades morts en pleine période d'état se montrèrent impropres à fournir de l'antigène. A partir du douzième cas l'on employa concurremment avec l'antigène typhique de l'extrait de foie syphilitique fourni par l'Institut sérothérapique de Dresde. Les résultats obtenus avec ces deux antigènes concordèrent absolument jusqu'au bout. Alors on fit la contre-épreuve et l'on rechercha le W., dans quatre cas de syphilis, avec les deux antigènes. Ils donnèrent des résultats identiques. Un antigène non spécifique fait avec du cœur de cobaye fut essayé dans quatre cas de typhus (positifs avec les deux autres antigènes, typhique et syphilitique): deux fois le résultat fut positif, une fois négatif, une fois douteux. Enfin l'antigène typhique fut employé à rechercher le W. dans un certain nombre de maladies telles que la pneumonie (2 fois), la fièvre typhoïde (4 fois), les oreillons (2 fois), la variole (2 fois), la tuberculose miliaire aiguë (1 fois): les résultats furent constamment négatifs.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

En somme sur 42 cas dont le diagnostic clinique était hors de discussion, le W. se montra 40 fois positif. Dans deux cas il fut négatif: dans l'un, même après la défervescence; l'autre mourut avant elle. Il s'ensuit que, ainsi que cela a été signalé déjà, dans le typhus exanthématique la présence de la réaction de W. constitue un fait en relation avec cette maladie. Cette relation, qui du reste a été constatée dans d'autres maladies, en dehors de la syphilis, est basée 1° sur la régularité presque absolue des résultats, 2° sur le fait que négative au début de la maladie, la réaction devient positive dans la suite pour redevenir négative un certain temps, plus ou moins long, après la guérison. Il ne peut donc s'agir ni de coïncidence ni de syphilis méconnues.

Ce point une fois acquis il était intéressant de voir ce que donnerait la recherche du W. dans ces cas comme on en voit au début ou à la fin des épidémies, qui tout en ne présentant pas de symptômes bien nets n'en sont pas moins suspects, soit qu'il s'agisse de malades ayant été en contact avec des cas avérés, soit qu'ils proviennent de quartiers infectés. Dix cas de ce genre furent examinés. Ils ne présentaient en fait de symptômes qu'un peu de cephalée accompagnée de fièvre, parfois intense, mais durant peu et laissant pourtant le malade dans un grand abattement. Huit de ces cas furent examinés pendant la période fébrile. Deux fois le W. fut trouvé positif; les six autres cas réexaminés immédiatement après la défervescence furent trouvés tous positifs ainsi que deux cas examinés seulement après leur guérison. Parmi les cas trouvés positifs après la défervescence nous citerons la propriétaire d'un garni et deux de ses locataires. Le W. fut enfin recherché dans 13 cas de fièvre indéterminée qui pas plus cliniquement qu'épidémiologiquement n'étaient suspects. Deux fois il fut trouvé positif. La première fois il s'agissait d'une femme qui pendant son séjour à l'hôpital n'eut de fièvre que trois jours seulement. Six jours après son admission on constatait des cas typiques de typhus exanthématique, dans sa propre maison aussi bien que dans les maisons voisines. Le second cas fut celui d'une femme dont la température s'écarta légèrement de la normale durant les quatre premiers jours du séjour qu'elle fit à l'hôpital. Cinq jours après sa sortie elle était ramenée avec des symptômes de péritonite. A l'autopsie le Prof. Kartulis constatait la perforation d'une plaque de Payer en voie de cicatrisation. C'était probablement une syphilitique se trouvant, quand elle fut admise la première fois, à la fin d'une fièvre typhoïde. Disons à ce propos que tous les malades dont il est question ici, qu'ils fussent typiques, suspects ou non suspects, étaient régulièrement examinées au point de vue de la fièvre récurrente: chez aucun d'eux le spirille d'Obermeyer ne fut jamais trouvé. Dans les cas douteux on ne manquait pas de faire en outre le Widal. Chez la femme citée en dernier lieu il fut pratiqué une fois et trouvé négatif.

Conclusions:

1° La réaction de W. se montre presque constamment positive dans le typhus exanthématique.

2° Négative au début elle devient presque toujours positive vers la défervescence, et redevient négative ensuite après un temps qui ne paraît pas très long (deux mois au maximum?).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3° On l'obtient aussi bien avec un antigène syphilitique qu'avec un antigène typhique, de sorte que pas plus que dans les autres maladies où elle a été constatée, elle ne constitue dans le typhus exanthématique une réaction spécifique dans le sens des réactions de Gruber ou de Pfeiffer, par exemple.

4° La recherche peut être utile dans les cas douteux, surtout au début ou à la fin d'une épidémie.

Nachdruck verboten.

Ueber die Beweglichkeit der den ultravioletten Strahlen ausgesetzten Bakterien.

[Aus dem Institut für Allgemeine Pathologie der Königl. Universität Neapel.]

Von Dr. **Ferdinando Porcelli-Titone,** Assistenten.

Die Wirkung der ultravioletten Strahlen auf die Bakterien wurde bisher studiert, indem man als Ausdruck der Lebensfähigkeit dieser Mikroorganismen ihre Reproduktionsfähigkeit betrachtete und deshalb wurden die Bacillen für abgestorben gehalten, die, in einen geeigneten Kulturboden verpflanzt, keine Entwicklung zeigten oder einem dafür empfänglichen Tier eingeimpft (wenn es sich um pathogene Mikroorganismen handelte), die besondere Krankheitserscheinungen nicht hervorgerufen hatten.

Ueber den Einfluß, den die ultravioletten Strahlen auf die anderen Lebenserscheinungen der Bakterien ausüben, ist sehr wenig bekannt. Im Monat Juli des vergangenen Jahres hatte M. Renaud (1) als er der Akademie der Wissenschaften in Paris die Resultate eines interessanten Studiums über die histochemische Integrität der bestrahlten Mikroorganismen und über ihre erfolgreiche Verwendung als Immunisationsstoffe mitteilte, Gelegenheit, zu bemerken, daß die vermittels kurzwelliger Bestrahlungen abgetöteten Bacillen, selbst wenn sie in großer Menge vorhanden sind, keine Modifikation der Nährsubstrate, wie Zuckergärung, Erzeugung von Indol, Eiweißgerinnung etc. mehr verursachen. Er erstattete jedoch keinen ausführlichen Bericht über die von ihm durchgeführten Experimente, so daß man nicht erkennt, unter welchen Bedingungen und wie lange die von ihm verwendeten Mikroorganismen der Wirkung der ultravioletten Strahlen ausgesetzt worden waren. Der Autor spricht jedoch von abgetöteten Bacillen und folgert tatsächlich aus dem Fehlen der oben erwähnten Modifikationen in den Nährböden, daß diese Modifikationen durch wesentlich vitale Einwirkungen der Mikroorganismen bedingt sind.

Durch eine zufällige Beobachtung veranlaßt, kam ich auf den Gedanken, zu untersuchen, ob unter der Einwirkung der ultravioletten Strahlen die verschiedenen Lebenserscheinungen der Bakterien gleichzeitig verschwinden, oder ob sie vielmehr in verschiedenem Grade widerstehen, wobei ich vor allem das Verhalten der Beweglichkeit studierte.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Was die schädliche Wirkung anbetrifft, welche die physikalischen Agentien auf die Beweglichkeit der Bakterien ausüben können, so ist Wirkung der Wärme wohl bekannt. Lehmann und Fried (2) fanden, daß niedrige Temperaturen die Bewegungen der Bakterien nur während der Zeit, in welcher sie einwirken, hemmen, wohingegen hohe Temperaturen, die noch nicht imstande sind, die Bacillen zu töten (49°), ihre Bewegung in endgültiger Weise zum Stillstand bringen, die deshalb nicht wieder erscheint, wenn die Bakterien wieder auf ihr Temperaturoptimum gebracht werden. Alsdann sind Bacillen vorhanden, die imstande sind, sich zu reproduzieren, aber ihrer Fähigkeit, sich zu bewegen, vollständig beraubt sind.

Auch die mit chemischen Agentien ausgeführten Untersuchungen hatten die Möglichkeit nachgewiesen, die Bakterien ihrer Beweglichkeit zu berauben, wobei ihnen jedoch das Reproduktionsvermögen erhalten blieb, und zu diesen Agentien sind die speziellen agglutinierenden Stoffe zu rechnen.

Ferner hatte man gesehen, daß bewegliche, unter bestimmten Bedingungen gezüchtete Bacillen die Beweglichkeit verlieren können, obgleich sie fortfahren, sich regelmäßig zu reproduzieren.

Die Resultate aller dieser Studien ließen also daran denken, daß die Beweglichkeit der Bakterien eine labilere Fähigkeit sei als ihr Reproduktionsvermögen, auch schon wegen der besonderen Zartheit der Bewegungsorgane selbst, der Cilien.

Ausgeführte Experimente.

Technik. Ich führte meine Untersuchungen an den folgenden beweglichen Bacillen aus: Typhusbacillus, Cholerabacillus, Paratyphus-A-Bacillus, Paratyphus-B-Bacillus, Bacterium coli, Bacillus subtilis.

Gewöhnlich verwendete ich junge Bouillonkulturen; nur bei den Experimenten mit dem B. subtilis zog ich es vor, in Agar gezüchtete Bacillen zu verwenden, um eine homogenere Suspension zu erhalten, denn dieser Bacillus bildet auf der Bouillon eine so dichte Haut, daß es nur schwer gelingt, sie in kleine Bruchstücke zu zerlegen. Ich wollte lieber Bouillonkulturen verwenden, weil man aus ihnen, wie bekannt, mit lebhafterer Beweglichkeit ausgestattete Bacillen erhält, und für den Zweck meiner Untersuchungen war dieser Vorteil von so großer Bedeutung, daß der Schaden nicht in Betracht kam, der von der Schutzwirkung herrührt, welche die in Bouillon gelösten Stoffe auf die Bakterien ausüben konnten. Uebrigens hatte dies keine weitere Folge als die Notwendigkeit, die Zeit der Aussetzung etwas zu verlängern.

Ehe ich ein Experiment begann, untersuchte ich die Beweglichkeit der Bakterien, mit denen das Experiment gemacht werden sollte, zu dem Zwecke, stets mit bestimmten Uebertragungsbewegungen ausgestattete Bacillen zu verwenden, die deshalb nicht mit passiven und Brownschen Bewegungen verwechselt werden konnten.

Wenn ich Bouillonkulturen verwendete, so verdünnte ich wenige Tropfen davon mit einigen Tropfen steriler physiologischer Lösung, indem ich eine größere oder geringere Verdünnung herstellte, je nachdem die Entwicklung in der verwendeten Kultur mehr oder minder reichlich war. Auf den Tabellen habe ich die bei den verschiedenen Experimenten hergestellten Verdünnungen angegeben. Wenn ich Kulturen in

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Agar verwendete, machte ich zuerst eine Bakteriensuspension in etwas physiologischer Lösung, so daß ich eine Flüssigkeit erhielt, die ungefähr so trübe wie eine 24-stündige Bouillonkultur von B. coli war, und verdünnte alsdann einen Tropfen dieser Suspension mit 10 Tropfen physiologischer Lösung.

Wenn die Experimente gut gelingen sollen, muß die Bakterienemulsion so homogen als möglich sein; es dürfen nämlich keine Klümpchen darin zurückbleiben, weil in letzteren, während die an der Peripherie gelegenen Bacillen der Wirkung der ultravioletten Strahlen ausgesetzt sind, die am tiefsten liegenden unversehrt bleiben. Aus demselben Grunde ist es nötig, daß die in der der Bestrahlung auszusetzenden Flüssigkeit enthaltenen Bakterien wenig zahlreich sind.

Indessen muß man bei Verwendung von Kulturen auf festen Böden oder nicht-homogenen Bouillonkulturen zuerst sorgfältig mit der Platinöse das entnommene Material in etwas physiologischer Lösung so emulsionieren, daß man daraus Emulsionen erhält, die leicht opaleszent sind und in denen das Auge keine Körnchen wahrnehmen kann, und diese Suspensionen müssen dann, ebenso wie die homogenen Bouillonkulturen, wieder in etwas physiologischer Lösung so verdünnt werden, daß man eine fast klare Flüssigkeit erhält.

Als Quelle für ultraviolette Strahlen verwendete ich eine Haereussche Quecksilberlampe der Firma Westinghouse, die unter einer Spannung von ca. 75 Volt arbeitete. Die Bakteriensuspensionen wurden in einer Entfernung von 20 cm von der Lampe in Uhrgläsern ausgesetzt.

Von Zeit zu Zeit, in bestimmten Zeitintervallen, entzog ich die Bacillen der Einwirkung des Lichtes vermittels einer vor die Lampe gestellten Scheidewand und entnahm einige Oesen Flüssigkeit, um daraus Kulturen auf Agar oder Bouillon und Präparate im hängenden Tropfen zu machen.

Ich bemerke noch, daß bei diesem Verfahren die Bacillen auf intermittierende Weise den Strahlen ausgesetzt wurden und deshalb die auf den Tabellen verzeichneten Zeiten die Summe von aufeinander folgenden Zeiten der Aussetzung angeben. Auf diesen Umstand wollte ich die Aufmerksamkeit hinlenken, weil meines Erachtens die intermittierende Dauer der Aussetzung eine Gesamtzeit der Einwirkung des Lichtes notwendig macht, die etwas länger ist als diejenige, welche notwendig ist, wenn die Aussetzung eine ununterbrochene ist.

Resultate der Experimente. Ich bringe auf den folgenden Tabellen die Resultate der Experimente, indem ich das Verhalten des Reproduktionsvermögens mit dem der Beweglichkeit der Bakterien vergleiche. Die verschiedene Zahl der Kreuzchen, mit denen ich die Beweglichkeit bezeichne, bezieht sich sowohl auf die verschiedene Anzahl der in den Präparaten im hängenden Tropfen enthaltenen beweglichen Individuen als auch auf die Lebhaftigkeit ihrer Bewegungen. Während ich also einerseits mit 4 Kreuzchen die Präparate bezeichne, in denen fast alle Bacillen beweglich waren und das mikroskopische Feld rasch durchziehen, bezeichne ich mit einem einzigen Kreuzchen diejenigen, in welchen die Bacillen nur oszillatorische Bewegungen oder Rotationsbewegungen um sich selbst zeigen, indem sie sich wenig und langsam verschieben. Die Präparate, in denen keine sicheren spontanen Bewegungen angetroffen wurden, sind mit dem Zeichen Minus (—) be-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zeichnet. In dieser Hinsicht muß ich bemerken, daß ich auf diese Weise alle Präparate bezeichnet habe, in denen eine Verschiebung der Bakterien im mikroskopischen Felde nicht beobachtet wurde und die oszillatorischen Bewegungen Zweifel entstehen lassen konnte, daß sie passiv waren.

Tabelle I.

1. Experiment. Typhusbacillus; 24-stündige Bouillonkultur; Verdünnung: 4 Tropfen auf 10 Tropfen physiologischer Lösung.

Zeit der Aussetzung	Beweglichkeit	Entwickelung in Agar
0 Min.	++++	reichliche Entwickelung
1 „	++++	dgl.
2 „	++++	zahlreiche isolierte Kolonieen
3 „	++++	22 Kolonieen
5 „	++++	7 Kolonieen
6 „	++++	keine Entwickelung
8 „	++++	dgl.
10 „	+++	dgl.
15 „	+++	dgl.
20 „	++	dgl.
25 „	+	dgl.
30 „	+	dgl.
45 „	?	dgl.

Tabelle II.

2. Experiment. Typhusbacillus; 6-stündige Bouillonkultur; Verdünnung: 4 Tropfen auf 6 Tropfen physiologischer Lösung.

Zeit der Aussetzung	Beweglichkeit	Entwickelung in Agar
0 Min.	++++	+++
1 „	++++	++
2 „	++++	+
4 „	++++	+
5 „	++++	—
7 „	++++	—
10 „	+++	—
15 „	+++	—
20 „	++	—
30 „	+	—
45 „	—	—

Tabelle III.

3. Experiment. Typhusbacillus; 24-stündige Bouillonkultur; Verdünnung: 1 Tropfen auf 10 Tropfen physiologischer Lösung.

Zeit der Aussetzung	Beweglichkeit	Entwickelung	
		in Agar	in Bouillon
0 Min.	++++	reichliche Entwickelung	+++
2 „	++++	8 Kolonieen	+
4 „	++++	1 Kolonie	—
6 „	++++	keine Entwickelung	—
8 „	++++	dgl.	—
10 „	+++	dgl.	—
15 „	++	dgl.	—
30 „	+	dgl.	—
45 „	—	dgl.	—

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV.

4. Experiment. Typhusbacillus; 20-stündige Bouillonkultur; Verdünnung: 1 Tropfen auf 14 Tropfen physiologischer Lösung.

Zeit der Aussetzung	Beweglichkeit	Entwickelung	
		in Agar	in Bouillon
0 Min.	++++	reichliche Entwickelung	+++
2 „	++++	keine Entwickelung	—
5 „	++++	dgl.	—
8 „	++++	dgl.	—
12 „	+++	dgl.	—
16 „	+++	dgl.	—
20 „	++	dgl.	—
25 „	+	dgl.	—
30 „	+	dgl.	—
45 „	?	dgl.	—

Tabelle V.

Experiment. Typhusbacillus; 18-stündige Bouillonkultur. Verdünnung: 2 Tropfen auf 14 Tropfen physiologische Lösung.

Zeit der Aussetzung	Beweglichkeit	Entwickelung in Agar
0 Min.	++++	reichliche Entwickelung
1 „	++++	zahlreiche isolierte Kolonieen
2 „	++++	16 Kolonieen
3 „	++++	10 Kolonieen
5 „	++++	keine Entwickelung
7 Min. 30 Sek.	++++	dgl.
10 Min.	++++	dgl.
13 „	+++	dgl.
16 „	+++	dgl.
20 „	++	dgl.
25 „	++	dgl.
30 „	+	dgl.
45 „	?	dgl.

Tabelle VI.

6. Experiment. Cholerabacillus; 18-stündige Bouillonkultur. Verdünnung: 2 Tropfen auf 6 Tropfen physiologische Lösung.

Zeit der Aussetzung	Beweglichkeit	Entwickelung in Agar
0 Min.	++++	reichliche Entwickelung
2 „	++++	16 Kolonieen
4 „	++++	keine Entwickelung
6 „	++++	dgl.
8 „	++++	dgl.
10 „	+++	dgl.
12 „	+++	dgl.
15 „	++	dgl.
20 „	++	dgl.
25 „	++	dgl.
30 „	+	dgl.
45 „	?	dgl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VII.

7. Experiment. Cholerabacillus; 20-stündige Agarkultur.

Zeit der Aussetzung	Beweglichkeit	Entwickelung	
		in Agar	in Bouillon
0 Min.	+++	reichliche Entwickelung	+++
2 „	+++	keine Entwickelung	—
5 „	+++	dgl.	—
8 „	+++	dgl.	—
12 „	+++	dgl.	—
16 „	++	dgl.	—
20 „	++	dgl.	—
25 „	+	dgl.	—
30 „	+	dgl.	—
45 „	—	dgl.	—

Tabelle VIII.

8. Experiment. Cholerabacillus; 24-stündige Bouillonkultur. Verdünnung: 2 Tropfen auf 10 Tropfen physiologische Lösung.

Zeit der Aussetzung	Beweglichkeit	Entwickelung	
		in Agar	in Bouillon
0 Min.	++++	reichliche Entwickelung	+++
2 „	++++	20 Kolonieen	++
4 „	++++	keine Entwickelung	—
6 „	++++	dgl.	—
8 „	++++	dgl.	—
10 „	++++	dgl.	—
12 „	+++	dgl.	—
15 „	+++	dgl.	—
20 „	++	dgl.	—
25 „	+	dgl.	—
30 „	+	dgl.	—
40 „	—	dgl.	—

Tabelle IX.

9. Experiment. Bacterium coli; 6-stündige Bouillonkultur. Verdünnung: 4 Tropfen auf 6 Tropfen physiologische Lösung.

Zeit der Aussetzung	Beweglichkeit	Entwickelung in Bouillon
0 Min.	+++	+++
1 „	+++	+++
2 „	+++	++
4 „	+++	+
5 „	+++	+
7 „	+++	—
10 „	+++	—
15 „	++	—
20 „	++	—
30 „	+	—
45 „	?	—

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle X.

10. Experiment. Bacterium coli; 18-stündige Bouillonkultur. Verdünnung: 2 Tropfen auf 10 Tropfen physiologische Lösung.

Zeit der Aussetzung	Beweglichkeit	Entwickelung in Agar
0 Min.	+++	reichliche Entwickelung
2 „	+++	22 Kolonieen
4 „	+++	3 Kolonieen
6 „	+++	keine Entwickelung
8 „	++	dgl.
10 „	++	dgl.
12 „	++	dgl.
15 „	++	dgl.
20 „	++	dgl.
25 „	+	dgl.
30 „	+	dgl.
40 „	?	dgl.

Tabelle XI.

11. Experiment. Paratyphus-A-Bacillus; 18-stündige Bouillonkultur. Verdünnung: 2 Tropfen auf 6 Tropfen physiologische Lösung.

Zeit der Aussetzung	Beweglichkeit	Entwickelung	
		in Agar	in Bouillon
0 Min.	+++	reichliche Entwickelung	+++
2 „	+++	keine Entwickelung	—
4 „	+++	dgl.	—
6 „	+++	dgl.	—
8 „	++	dgl.	—
10 „	++	dgl.	—
12 „	++	dgl.	—
15 „	++	dgl.	—
20 „	++	dgl.	—
25 „	+	dgl.	—
30 „	+	dgl.	—
45 „	—	dgl.	—

Tabelle XII.

12. Experiment. Paratyphus-B-Bacillus; 20-stündige Bouillonkultur. Verdünnung: 2 Tropfen auf 14 Tropfen physiologische Lösung.

Zeit der Aussetzung	Beweglichkeit	Entwickelung	
		in Agar	in Bouillon
0 Min.	+++	reichliche Entwickelung	+++
2 „	+++	keine Entwickelung	—
5 „	+++	dgl.	—
8 „	+++	dgl.	—
12 „	++	dgl.	—
16 „	++	dgl.	—
20 „	++	dgl.	—
25 „	+	dgl.	—
30 „	+	dgl.	—
45 „	—	dgl.	—

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XIII.
13. Experiment. Bacillus subtilis; 48-stündige Agarkultur.

Zeit der Aussetzung	Beweglichkeit	Entwickelung in Bouillon
0 Min.	++	+++
1 „	++	+++
2 „	++	++
4 „	++	+
5 „	++	+
7 „	++	—
10 „	++	—
15 „	++	—
20 „	+	—
30 „	+	—
45 „	+	—
60 „	—	—

Tabelle XIV.
4. Experiment. Bacillus subtilis; 24-stündige Agarkultur.

Zeit der Aussetzung	Beweglichkeit	Entwickelung	
		in Agar	in Bouillon
0 Min.	++	reichliche Entwickelung	+++
2 „	++	18 Kolonieen	++
4 „	++	4 Kolonieen	+
6 „	++	keine Entwickelung	—
8 „	++	dgl.	—
10 „	++	dgl.	—
15 „	+	dgl.	—
20 „	+	dgl.	—
30 „	+	dgl.	—
40 „	+	dgl.	—
50 „	—	dgl.	—

Ebenfalls mit Kreuzchen habe ich die Reproduktion der Bakterien in den Bouillonröhren bezeichnet, indem ich durch ihre verschiedene Zahl den Reichtum der Entwicklung bezeichne, den ich, je nach der Bakterienart, aus der verschiedenen Trübung der Bouillon nach einer bestimmten Zeit oder aus der mehr oder minder raschen Bildung der Oberflächenhaut folgerte.

Aus der Prüfung der vorstehenden Tabellen ergibt sich, daß die der Einwirkung der ultravioletten Strahlen ausgesetzten Bakterien sich noch beweglich zeigen, nachdem sie die Fähigkeit, sich zu reproduzieren, verloren haben.

Man bemerkt nämlich, daß, während jede reproduktive Tätigkeit in einer Zeit, die von 2—7 Minuten variierte, aufhörte, die spontane Beweglichkeit noch nach einer Aussetzung von 30 und bisweilen von 45 Minuten augenfällig war.

Die Unterschiede in den Resultaten der verschiedenen Experimente hängen ab von den kleinen Unterschieden der umgebenden Flüssigkeit, von der verschiedenen Menge der in ihr suspendierten Bacillen, von der größeren oder geringeren Homogenität der Suspension; wahrscheinlich hängen sie auch ab von der verschiedenen Länge der Zeitintervalle, welche die Aussetzung unterbrochen hatten.

Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Auf diese Weise durchgeführte Experimente konnten keine absoluten Werte hinsichtlich der Aussetzungsdauer liefern, die erforderlich ist, um die Bacillen unbeweglich oder zu ihrer Reproduktion unfähig zu machen, weil die Absorption der ultravioletten Strahlen seitens der Flüssigkeit, wie leichten Grades sie auch war, und die Schutzwirkung der oberflächlichen Bacillen für die am tiefsten liegenden die Wirkungsintensität ungleich machen, welche die einzelnen Individuen erfahren, die deshalb dem Einfluß der Bestrahlung einen verschiedenen Widerstand entgegensetzen. Immerhin läßt sich dagegen die Beziehung zwischen der geringsten Aussetzungszeit, die imstande ist, die Bacillen ihres Reproduktionsvermögens zu berauben, und der, die erforderlich ist, um sie unbeweglich zu machen, feststellen. Aus den geschilderten Experimenten geht hervor, daß die minimalste Aussetzungszeit, welche erforderlich ist, um die Beweglichkeit der Bacillen aufzuheben, 6—20mal größer ist wie die Zeit, die genügend ist, um die Bacillen reproduktionsunfähig zu machen.

Es ist zu bemerken, daß die Beweglichkeit der Bakterien, die den ultravioletten Strahlen während einer etwas längeren Zeit, als erforderlich ist, um sie zur Reproduktion ungeeignet zu machen, ausgesetzt worden waren, sich fortwährend so lebhaft zeigte wie bei den Bakterien, die der Bestrahlung nicht ausgesetzt worden waren. In der Tat wurden sehr lebhafte Bewegungen angetroffen bei Proben, die den Strahlen während einer auch 6mal längeren Zeit ausgesetzt worden waren als die minimalste Zeit, die erforderlich ist, um sie des Reproduktionsvermögens zu berauben (s. Experiment IV und VII).

In der Folge wurden die Bewegungen der Bakterien in dem Maße, wie die Dauer der Bestrahlung verlängert wurde, immer träger, bis sie ganz aufhörten.

Es war nun interessant, zu sehen, welches das Schicksal dieser der Fähigkeit der Reproduktion beraubten Bacillen war, wenn man beobachtete, wie lange sie, sich selbst überlassen, sich noch beweglich erhielten. Zu diesem Zwecke wiederholte ich in verschiedenen Intervallen die Untersuchung der Präparate im hängenden Tropfen. Auf den beiden folgenden Tabellen bringe ich die Resultate von 2 Beobachtungsreihen, die sich auf das 5. und 6. Experiment der vorhergehenden Tabellen beziehen, welche mit Typhus- und Cholerabacillen durchgeführt wurden, die wegen ihrer lebhaften Beweglichkeit sich am besten für den Zweck eigneten. Aehnliche Beobachtungen habe ich auch an Präparaten von anderen Experimenten gemacht, aber von ihnen fehlen mir regelmäßige Notizen, die ich hier anführen könnte; ihre Resultate stimmen mit denen überein, die ich nun anführen will.

In den folgenden Tabellen hielt ich es für zweckdienlich, Uebertragungsbewegungen und Bewegungen auf der Stelle zu unterscheiden, indem ich mit dieser letzteren Benennung diejenigen Rotations-, Schwänzelbewegungen etc. bezeichne, die, wenn sie auch nicht von Verschiebung der Bakterien im mikroskopischen Felde begleitet waren, dennoch gewiß aktiv waren.

Wie man aus den nachstehenden Tabellen ersieht, wurden die bestrahlten Bacillen zuletzt etwas früher als die nicht bestrahlten unbeweglich; immerhin dauerte ihre Beweglichkeit lange fort, und zwar um so länger, je kürzer die Einwirkung der ultravioletten Strahlen gewesen war. Auch in diesem Falle trat der Verlust der Beweglichkeit stufenweise ein; die Bewegungen wurden immer langsamer, dann kamen die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XV.
5. Experiment. Typhusbacillus.

Zeit der Aussetzung	Entwickelung	Dauer der spontanen Bewegungen	
		Uebertragungsbewegungen	Bewegungen auf der Stelle
0 Min.	+	74 Stunden	5 Tage
1 „	+	74 „	5 „
2 „	+	74 „	5 „
3 „	+	74 „	4 „
5 „	—	68 „	3 „
7 Min. 30 Sek.	—	60 „	$2^1/_2$ „
10 Min.	—	36 „	2 „
13 „	—	18 „	40 Stunden
16 „	—	10 „	32 „
20 „	—	8 „	12 „
25 „	—	1 „	8 „
30 „	—	—	2 „
45 „	—	—	1 „

Tabelle XVI.
6. Experiment. Cholerabacillus.

Zeit der Aussetzung	Entwickelung	Dauer der spontanen Bewegungen	
		Uebertragungsbewegungen	Bewegungen auf der Stelle
0 Min.	+	68 Stunden	4 Tage
2 „	+	68 „	4 „
4 „	—	68 „	3 „
6 „	—	52 „	$2^1/_2$ „
8 „	—	48 „	2 „
10 „	—	36 „	40 Stunden
12 „	—	20 „	36 „
15 „	—	8 „	26 „
20 „	—	2 „	10 „
25 „	—	0 Std. 30 Min.	4 „
30 „	—	—	1 „
45 „	—	—	0 Std. 30 Min.

Bacillen zum Stillstand, indem sie sich zu ganz kleinen Haufen gruppierten, und endlich erschienen sie ganz unbeweglich.

Bacillen, die der Bestrahlung wenig länger als die minimalste Zeit, die erforderlich ist, um sie ihres Reproduktionsvermögens zu berauben, ausgesetzt wurden, zeigten noch nach 3 Tagen kleine spontane Bewegungen; andererseits blieb die lebhafte Beweglichkeit bei ihnen fast ebenso lange bestehen, als sie bei denen fortbestand, die keine schädliche Einwirkung erlitten hatten. Dies läßt annehmen, daß die Lebensbedingungen, unter denen die Mikroorganismen sich (in den bei verhältnismäßig niedriger Temperatur gelassenen hängenden Tropfen) befinden, die erste Ursache der Verlangsamung der Bewegungen selbst darstellten.

Die Konstatierung, daß Bacillen, die der Reproduktion unfähig waren, sich vollkommen beweglich erhalten, und zwar lange Zeit hindurch, beweist, daß der Verlust des reproduktiven Vermögens bei den nicht bestrahlten Bacillen dem Tode der Individuen, und zwar um ein beträchtliches Zeitintervall, vorausgeht.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dies läßt daran denken, daß die ultravioletten Strahlen im Bakterienprotoplasma keine groben und tiefgehenden physikalisch-chemischen Modifikationen hervorrufen und daß sie sein Leben rasch zum Stillstand bringen, daß sie aber eine ganz spezielle und viel feinere Wirkung entfalten, als die anderen physikalischen Agentien sie auf die Mikroorganismen ausüben.

Dies stimmt überein mit den Ansichten Renauds über das Fehlen merklicher histo-chemischer Veränderungen in den mittels der ultravioletten Strahlen abgetöteten Bakterien.

Schlußfolgerungen.

Die der Einwirkung der ultravioletten Strahlen ausgesetzten Bakterien erhalten sich noch beweglich, wenn sie schon jedes Reproduktionsvermögen verloren haben.

Damit die Bestrahlung die Bacillen unbeweglich macht, ist es nötig, daß sie eine 6—20mal längere Zeit hindurch einwirkt, als die Zeit, welche genügt, um sie des Reproduktionsvermögens zu berauben.

Die Lebhaftigkeit der Bewegungen bei Bacillen, die auf diese Weise ihre Reproduktionsfähigkeit verloren, kann sich noch, und zwar eine verhältnismäßig lange Zeit hindurch, vollkommen normal zeigen. Sie hält um so länger an, je kürzer die Einwirkung der ultravioletten Strahlen gewesen ist, und ihr Verschwinden erfolgt stets in stufenförmiger Weise.

Aus dem Fortbestehen der Beweglichkeit ersieht man, daß die bestrahlten Bakterien den Verlust ihres Reproduktionsvermögens überleben, welch letzteres sich also als besonders empfindlich gegen die Einwirkung der ultravioletten Strahlen erweist.

Diese Tatsachen gestatten uns, anzunehmen, daß die Bestrahlung keine groben, stürmischen Modifikationen in der Struktur des Bakterienprotoplasmas herbeiführt, sondern auf letzteres eine ganz spezielle Wirkung ausübt, die viel zarter als die von den anderen sterilisierenden physikalischen Agentien ausgeübte ist.

Es wäre wichtig, festzustellen, ob Keime, die auf solche Weise unfähig geworden sind, sich fortzupflanzen, jedoch noch lebensfähig geblieben, mit Vorteil als Impfstoff verwendet werden könnten.

Literatur.

1) Renaud, M., Compt. rend. de l'Acad. d. Scienc. T. 157. 1913.
2) Lehmann u. Fried, Arch. f. Hyg. Bd. 46. 1903.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Die diagnostische Bedeutung der Agglutination der giftarmen Dysenteriebacillen (Paradysenteriebacillen) in Patientenseris.

[Aus dem „Statens Seruminstitut" zu Kopenhagen (Direktor: Dr. Th. Madsen).]

Von Dr. **Carl Sonne,** Assistenten am Institute.

In einer früheren, in dieser Zeitschrift erschienenen Mitteilung habe ich einige Untersuchungen über die Bakteriologie der giftarmen Dysenteriebacillen publiziert.

Es ging aus dieser Arbeit hervor, daß ich 3 verschiedene Gruppen dieser Bacillen (Gruppe I, II und III) nachgewiesen habe. Der Gruppe I und II gehören wahrscheinlich alle früheren sogenannten giftarmen Dysenteriebacillen an („Flexner", „Y" und „Strong"), während die Bacillen der Gruppe III, die in agglutinatorischer Beziehung sehr beträchtlich von den verwandten Gruppen I und II abweichen, vorher nicht mit Sicherheit als Dysenteriebacillen erkannt worden sind.

Der „Flexner"sche Bacillus gehört der Gruppe II an. Wie in der oben erwähnten Arbeit näher erörtert wurde, ist dieser „Flexner"-Bacillus in der Tat mit zahlreichen, sich oft in kultureller Beziehung wie „Y"-Bacillen verhaltenden Bacillen identisch, während andererseits Bacillen, die bisweilen wie „Flexner"-Bacillen vergären, der Gruppe I angehören.

Es läßt sich nicht immer entscheiden, inwieweit Bacillen, welche in der Literatur als „Y"- oder „Flexner"-Bacillen aufgeführt sind, dieser oder jener Gruppe angehören; deswegen wird es auch nicht möglich sein, bei der Durchsicht der über diese Frage vorliegenden Literatur zwischen diesen beiden Gruppen streng zu scheiden, weshalb sie zusammen besprochen werden sollen. Die allgemeine Auffassung ist nun die, daß sich die „Y"- und „Flexner"-Bacillen bei der Agglutination mit Seris gesunder und kranker Menschen im wesentlichen gleich verhalten; es scheinen außer Fürth überhaupt keine anderen Autoren (s. unten) Abweichungen in dieser Beziehung beobachtet zu haben. Es kann deshalb ohne Bedeutung bleiben, einmal daß alle giftarmen Dysenteriebacillen von den Verfassern meist als „Flexner"-Bacillen gedeutet wurden, bis Hiss und Russell im Jahre 1904 die Einteilung in die Typen „Y" und „Flexner" veröffentlichten, und zweitens daß Kruse und seine Schüler die genannte Gruppierung nicht anwandten.

Ueber Agglutination der den Gruppen I und II angehörenden Dysenteriebacillen.

Allgemeine Uebersicht.

In einer Arbeit aus dem Jahre 1901, in der die sogenannten Pseudodysenteriebacillen zum ersten Male erwähnt und beschrieben wurden, führt Kruse an, daß er öfters Agglutination in Verdünnung $^1/_{50}$ in Seris normaler Menschen vorgefunden habe, während die Sera von Patienten in einer Verdünnung $^1/_{100}$ oder in noch stärkerer Ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dünnung die Bacillen agglutinierten. Die Zahl der von ihm untersuchten Normalsera gibt er nicht an.

Im Jahre 1902 fanden Martini und Lentz, daß der „Flexner"-Bacillus bisweilen durch normales menschliches Serum in einer Verdünnung $^1/_{60}$ agglutiniert wurde. Während der Epidemie in Saarbrücken ist von Lentz beträchtliche Agglutination in Patientenseris (in Verdünnung $^1/_{500}$ und mehr) mittels des dort gefundenen „Y"-Stammes beobachtet worden. Da er mit diesem Stamm durch Prüfung in mehreren Normalseris höchstens einen Agglutinationswert $^1/_{20}$ bekam, ist er der Meinung, daß die Agglutination mit diesen Bacillen in der Serumverdünnung $^1/_{100}$ für die Diagnose: Dysenterie ausschlaggebend sei. Weder das erste noch das zweite Mal gibt Lentz die Zahl der von ihm untersuchten Normalsera an.

Dieser von Lentz vertretenen Anschauung sind später fast alle Autoren beigetreten (Fürth, Krägel, Loewenthal, Lucksch, Trembur, Fischer, Hohn und Stade u. a.).

Es weichen aber die von den verschiedenen Verfassern erhaltenen Resultate hinsichtlich der Agglutination dieser Bacillen in Normalseris sehr bedeutend voneinander ab.

So finden z. B. Jürgens und Leiner, daß die von ihnen gefundenen in serologischer Beziehung mit dem Flexnerschen Manillastamm ganz übereinstimmenden Stämme in Normalserum nicht agglutiniert werden, und Dörr ist der Meinung, daß „Flexner"-Bacillen mitunter in Normalserum im Verhältnisse $^1/_{20}$, sehr selten aber im Verhältnisse $^1/_{80}$ agglutiniert werden. Foulerton erhielt mittels eines Flexnerschen Stammes höchstens eine Agglutination von $^1/_{10}$ in Normalseris.

Zu ganz anderen Ergebnissen gelangten Liefmann und Nieter (im Jahre 1907 veröffentlicht). Bei der serologischen Untersuchung der Patienten eines Irrenhauses, in dem einige Dysenteriefälle mit positivem Bacillenbefunde beobachtet waren, fanden sie bei 52 anscheinend darin gesunden Individuen 4mal Agglutination in Verdünnung $^1/_{200}$ und 7mal in $^1/_{100}$. Bei Patienten, deren Stühle Schleim enthielten, ohne daß aber Zeichen von akuter Dysenterie vorhanden gewesen waren, fanden sie eine noch stärkere Agglutination. Im Gegensatz zu Lentz meinen sie daher, daß erst durch Agglutination in einer Serumverdünnung $^1/_{400}$ die Diagnose: Dysenterie gesichert werde.

Gegen die von Liefmann und Nieter erworbenen Resultate läßt sich allerdings der Einwand machen, daß die Untersuchungen bei den Insassen einer Anstalt ausgeführt wurden, die von einer Dysenterieepidemie beeinflußt waren, bei denen es sich also nicht mit Sicherheit entscheiden läßt, daß die anscheinend darin gesunden geisteskranken Individuen vorübergehend noch Spuren von ruhrähnlichen Anfällen dargeboten haben.

Spätere Verfasser haben jedenfalls diese hohe Grenzagglutination in der Verdünnung $^1/_{400}$ nicht anerkennen wollen, sondern rechnen mit der Verdünnung $^1/_{100}$. Es scheint aber, als ob keiner der Verfasser die Agglutination der Normalsera in weiterem Umfange untersucht hat.

Fischer, Hohn und Stade haben z. B. nur 6 Normalsera untersucht und darin höchstens Agglutination bei $^1/_{50}$ erhalten, Fürth fand in 8 Normalseris die höchste Agglutination bei $^1/_{80}$.

Andere Autoren welche mit einer Agglutination in der Serumverdünnung $^1/_{100}$ rechnen, sind dadurch zu ganz überraschenden Resultaten gelangt. So ermittelte Lucksch mittels dieser Agglutination mehrere Fälle von Dysenterie in einem Irrenhaus, ohne daß den Anstaltsärzten die Erkrankungen der betreffenden Patienten bekannt geworden waren. Loewenthal ist soeben mittels derselben Reaktion zu dem Ergebnis gelangt, daß Dysenterie eine weit häufigere Krankheit in Berlin sein muß, als man bisher annahm. In dem Zeitraum von März 1911 bis zu Januar 1912 untersuchte er 417 Sera, die ihm aus verschiedenen Bezirken Berlins zwecks Anstellung der Widalschen und Wassermannschen Reaktion zugesandt wurde. Es wurde bei sämtlichen Seris die Agglutinationsprobe mit zwei „Y"-Stammen und bei mehreren Seris auch die mit einem „Flexner"-Stamme versucht. Drei Stämme geben dieselbe Agglutination. 13,6 Proz. gaben „positive" Reaktion (d. h. in der Verdünnung $^1/_{100}$ oder darüber), bei 19,6 Proz. war die Agglutination „stark angedeutet" (d. h. in der Verdünnung $^1/_{50}$); der Rest 66,8 Proz. war „negativ) (d. h. bei $^1/_{25}$ oder darunter). L. zieht hieraus den Schluß, daß die Dysenterie keineswegs in Berlin selten vorkommt — und zwar weil „kaum irgendwelche Berechtigung vorliege", die Beweisfähigkeit dieser Agglutination zu verleugnen.

Wie aus dem Obigen hervorgeht, besitzt das Serum normaler Menschen oft eine ziemlich starke Agglutinationskraft für Ruhrbacillen. In wie weitem Umfange dies aber der Fall ist, scheint bis jetzt kaum

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mit Sicherheit festgestellt zu sein, da die Untersuchungen hierüber erstens sehr schwankende Resultate gegeben haben, und zweitens kaum genügend umfangreich genannt werden können.

In den meisten Fällen ist die Agglutination makroskopisch untersucht worden, und in der Regel wurden Agarkulturen benutzt, deren Bakterien in Serumverdünnungen mit Kochsalzlösung aufgeschlemmt worden sind.

Inwieweit nun die großen Differenzen durch die verschiedene Technik bedingt sind, läßt sich natürlich nicht mit Sicherheit feststellen.

Eigene Untersuchungen.

Ueber das Vorkommen von Ruhragglutininen im menschlichen Blute im allgemeinen.

Um uns nun ein eigenes Urteil darüber zu bilden, wie häufig eine stärkere Agglutination bei Personen ist, die nachweislich in keinen Beziehungen zu einer Dysenterieinfektion standen, stellte ich mit 169 Seris, die hauptsächlich dem Seruminstitute zur Anstellung der Wassermannschen Reaktion zugeschickt worden waren, Untersuchungen an. Ich verwandte für diese Versuche 24-stündige Bouillonkultur des Stammes Rg. 150 (Gruppe I). Die 169 Sera reagierten in folgender Weise:

Agglutination des Stammes Rg. 150 (Gruppe I).

Agglutination bei	1:250	und darüber:	13	Sera	=	7,7	Proz.
„ „	1:100	„ „	46	„	=	27,2	„
„ „	1: 50	„ „	74	„	=	43,8	„
„ „	< 50	„ „	95	„	=	56,2	„

Bei 116 dieser Seris wurde gleichzeitig die Agglutination mit einer Kultur des Stammes Rg. 216 (Gruppe II) versucht. In der untenstehenden Tabelle ist die Agglutination beider Stämme mit diesen Seris aufgeführt:

Agglutination der Stämme Rg. 150 und Rg. 216.

						Rg. 216.	
Agglutination bei	1:250	und darüber:	9	Sera	=	7,8	Proz.
„ „	1:100	„ „	26	„	=	22,4	„
„ „	1: 50	„ „	44	„	=	37,9	„
„ „	< 50	„ „	72	„	=	62,1	„
						Rg. 150.	
Agglutination bei	1:250	und darüber:	3	Sera	=	2,6	Proz.
„ „	1:100	„ „	19	„	=	16,4	„
„ „	1: 50	„ „	44	„	=	37,9	„
„ „	< 50	„ „	72	„	=	62,1	„
						Beide Stämme[1]).	
Agglutination bei	1:250	und darüber:	1	Serum	=	0,9	Proz.
„ „	1:100	„ „	9	Sera	=	7,8	„
„ „	1: 50	„ „	26	„	=	22,4	„
„ „	< 50	„ „	54	„	=	46,6	„

Wie aus den obigen Tabellen hervorgeht, reagierten die menschlichen Sera in einem hohen Prozentsatz mit den Ruhrbakterien positiv. Es müßten also nach Lentz, Loewenthal u. m. ca. $^1/_3$ oder mehr der Individuen, von denen diese Sera herrührten,

1) Unter „Beide Stämme" findet sich die Zahl der Sera, welche Rg. 150 und Rg. 216 gleich stark agglutinierten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:38 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mit Dysenterie infiziert sein, oder jedenfalls vor kurzer Zeit Dysenterie durchgemacht haben.

Die Agglutination der Bacillen aus der Gruppe I und II stimmt nicht ganz überein; in einigen Fällen wird es sich vielleicht um eine Infektion mit einem dieser Gruppe angehörenden, und in anderen Fällen (etwa ebenso vielen) mit einem der anderen Gruppe angehörenden Bacillus gehandelt haben; in mehreren Fällen mag vielleicht auch eine Doppelinfektion stattgefunden haben.

Daß Loewenthal in seinen in Berlin angestellten Untersuchungen eine völlig gleiche Agglutination bei zwei sogenannten „Y"-Bacillen und einem sogenannten „Flexner"-Bacillus gefunden hat, dürfte — wie aus dem bakteriologischen Abschnitt hervorgeht — eventuell darin seinen Grund haben, daß sein „Flexner"-Bacillus mit dem „Y"-Bacillus identisch gewesen sei.

Fürth hat eine Reihe von Dysenterierekonvaleszentenseris sowohl mit einem „Y"- als auch mit einem „Flexner"-Bacillus agglutinatorisch untersucht. Er hat nicht die Agglutination den 2 Bacillen gegenüber in allen Seris gleich vorgefunden und erwähnt sowohl Zeichen von „Flexner"-Dysenteriebacilleninfektion, „Y"-Dysenteriebacilleninfektion als auch von Doppelinfektion.

Das Resultat meiner Untersuchungen stimmt übrigens mit denen Loewenthals ziemlich gut überein. Zwar mag es a priori sehr wahrscheinlich sein, daß die Häufigkeit der von Dysenteriebacillen hervorgerufenen Infektionen in Berlin und Kopenhagen dieselbe ist; wenn Loewenthals Ansicht von dem Wert der Agglutination zutreffend ist, scheint indessen die Infektion hier etwas häufiger als in Berlin zu sein; allein die Untersuchungen sind nicht zur gleichen Zeit und von Loewenthal auch an einem etwas größeren Material vorgenommen.

Sind denn aber die Voraussetzungen, auf die Loewenthal seine Schlüsse basiert hat, fehlerfrei? Ist man denn wirklich berechtigt, mit Lentz zu behaupten, es sei die Agglutination in der Serumverdünnung $^1/_{100}$ ein sicheres Zeichen von einer Dysenterieinfektion oder einer soeben überstandenen Dysenterie?

Ueber den Ursprung der häufig vorkommenden Agglutinine im Blute normaler Menschen.

Um den Wert der Agglutination beurteilen zu können, waren zunächst von einer großen Zahl normaler, darmgesunder Individuen Serumproben zu untersuchen. Da mir dies nicht möglich war, so habe ich statt dessen darüber Untersuchungen angestellt, inwieweit das Vorhandensein großer Mengen von Dysenterieagglutininen im menschlichen Serum durch andere Infektionen bedingt sein könnte als von einer Dysenteriebacilleninfektion.

Auf diese Untersuchungen hat mich mehr ein Zufall geführt; die näheren Umstände gestalteten sich folgendermaßen: Am 14. Sept. 1912 wurde mir der Stuhl eines jungen Mädchens zur Untersuchung auf Dysenteriebacillen zugestellt. Die Patientin hatte kurz vorher einen typischen Anfall von Dysenterie gehabt, und dabei — wie man vermutete — eine verheiratete Schwester angesteckt, die sie besuchte und bei der ich kurz vorher Dysenteriebacillen (Stamm 1030 der Gruppe III) vorgefunden hatte. Gleichzeitig mit den Exkrementen wurde mir auch Blut von dem jungen Mädchen zugeschickt; es stellte sich nun heraus, daß das Serum sowohl die Bacillen der Schwester in der Verdünnung $^1/_{10}$ — ein Befund, der auf eine von diesen Bacillen bedingte Infektion (s. unten) deutete — als auch den Stamm Rg. 150 (Gruppe I) in der Verdünnung $^1/_{100}$ agglutinierte. Es fiel mir gleich ein, daß hier eine Doppelinfektion vorliegen könnte, und im Darminhalt fand ich dann auch einen Bacillus, welcher nach 24 Stunden bei 37° C keine Gasentwickelung in Glukoseagar gab und bei einer vorläufigen Probe im Dysenterieimmunserum „Helsingör" (Gruppe I) bis auf $^1/_{1000}$ agglutiniert wurde; während den folgenden 24 Stunden fand aber im Glukoseagar deutliche Gasentwickelung statt, und bei weiterer Austitrierung in Serum „Helsingör" ließ sich der Bacillus nicht stärker

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

als bis $^1/_{1000}$ agglutinieren, während der Titer des Serums $^1/_{10000}$ betrug. Der Bacillus zeigte sich im ganzen bei der Züchtung auf verschiedenen Zuckersubstraten wie ein typischer Bac. coli B.

Ich habe später die Exkremente des jungen Mädchens 5mal untersucht, ohne ein einziges Mal Dysenteriebacillen der Gruppe I (oder II) vorzufinden; wie zu erwarten war, fand ich dagegen einen Dysenteriebacillus der Gruppe III während eines der Rezidive, die sie später bekam.

Daß ein Coli-Bacillus oder anderer fremder Bacillus in Dysenterieserum agglutiniert wird, ist nichts Neues. Schon im Jahre 1903 fanden Duval und Shorer einen Bacillus faecalis alcaligenes, welcher von Dysenterieserum agglutiniert wurde, und 1905 beschreiben Park und Collins ziemlich ausführlich einen Coli-Bacillus mit derselben Eigenschaft; vor allem haben aber Kuhn, Gildemeister und Woithe eine Reihe derartiger Fälle beobachtet, und das Phänomen unter dem Namen Paraggglutination beschrieben.

Der Zweck der Untersuchungen dieser Verff. war im wesentlichen nachzuweisen, daß derartige paragglutinable Bacillen in der Regel nur bei Individuen vorkommen, welche an einer Infektion mit Dysenteriebacillen leiden oder vor kurzem überstanden haben. Die Paragglutination beruht danach auf einer von den Dysenteriebacillen mitgeteilten Rezeptorengemeinschaft, und wäre von der Mitagglutination dadurch zu unterscheiden, daß eine Bakterie nie ihr Mitagglutinationsvermögen zu verlieren pflegt, während das Paragglutinationsvermögen der Bakterien nach und nach wieder verschwindet.

Da ich nun den besprochenen Coli-Bacillus bei einem Individuum, dessen Serum gleichzeitig den der Paragglutination entsprechenden Dysenteriebacillus agglutinierte, vorgefunden habe, während absolut nichts darauf deutete, daß die Patientin nicht nur mit dem Dysenteriebacillus der Gruppe III, sondern auch mit einem Dysenteriebacillus der Gruppe I infiziert war, fühlte ich mich hierdurch veranlaßt, eine Untersuchung der Darmflora mit besonderer Berücksichtigung der dysenterieparagglutinablen Bakterien bei einigen der Individuen, deren Serum Dysenteriebacillen der Gruppe I und II agglutinierte, anzustellen.

Es gelang mir von im ganzen 10 Individuen, deren Seren alle mehr oder weniger den genannten Forderungen entsprachen, Exkremente zur Untersuchung zu erhalten. Soweit es sich ermitteln ließ, waren alle Personen absolut darmgesund; keine hatte dysenterieähnliche Symptome dargeboten oder war je mit Dysenteriekranken in Berührung gekommen.

Das Resultat dieser Untersuchung ergibt sich aus Tabelle A.

Die schwächste Verdünnung, in welcher die Seren geprüft wurden, ist $^1/_{25}$. Wie aus der Tabelle hervorgeht, agglutinierten die meisten Seris sowohl Rg. 150 als auch Rg. 216, jedoch meist in verschiedenem Grade; nur bei 2 Personen (No. I und IV) ist die Agglutination von Rg. 150 <25, während sie bei Stamm Rg. 216 50 und 100 beträgt. Ein Serum ist nur mit Rg. 150 (No. VIII) geprüft worden.

Bei der Untersuchung der Stühle fanden sich bei allen Personen Bakterien, welche von den Dysenterieimmunseris der Gruppe I (Serum „Helsingör") und der Gruppe II (Serum „Frederikshavn") mehr oder weniger agglutiniert wurden; nirgends wurden aber Dysenteriebacillen vorgefunden. Die Paragglutination war in der Regel ziemlich schwach; aber bei keinem Individuum unter 100 im Serum „Helsingör" und etwas geringer im Serum „Frederikshavn". 2mal steigt jedoch der Agglutinationswert im „Helsingör"-Serum bis auf 1000 (No. I und IV) und 1mal sogar bis auf 5000 (No. VIII). Am häufigsten sind es Coli-Bacillen, welche agglutiniert werden; ein paarmal sind es Kokken, und ein einziges Mal (No. VI) Vibrionen. Wie aus dem Schema hervorgeht, wurde die Art der Coli-Bacillen vermittelst der Zuckervergärung ad modus C. O. Jensen näher bestimmt. Die paragglutinablen Bakterien ließen sich ohne Schwierigkeiten auffinden; unter 4—5 Kolonieen der mit den

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle A.

Faeces- und Blutuntersuchungen bei normalen Menschen, deren Serum Dysenteriebacillen agglutinierte.

Nummer und Name des Individuums	Serumuntersuchungen				Faecesuntersuchungen							
	Datum	Agglutination der Bacillen			Datum	Zahl der unter-suchten Kolonieen	Art der Bacillen	Agglutination der Bacillen in Serum				
		Rg. 150	Rg. 216	Coli P				„Hel-singör“	„Fre-deriks-havn“	eigenes Serum	Coli 1055	Coli P
I. K. P.	8. 10. 12	< 25	50	100	25. 10. 12	4	1 Coli B (Coli P)	1000	100	100	50	5000
							3 Coli?	< 50	< 50	.	.	
II. A. C.	2. 11.	25	100	100	8. 11.	6	1 Coli B	100	50 (100)	100 (250)	> 50	
							1 Coli B	(50)	< 50	(50)	50	
							1 Coccus	< 50	(50)	50 (100)	< 50	
							2 Coli B, 1 Coli A	< 50	< 50	< 50	< 50	
III. G. J.	2. 11.	50	100	100	8. 11.	4	2 Coli B	100	(50)	100 (250)	100 (250)	
							2 Coli B	< 50	< 50	< 50	< 50	
IV. E. D.	2. 11.	< 25	100	50	8. 11.	4	1 Coccus	1000	250	250	50 (100)	
							1 Coli A	(50)	< 50	(50)	< 50	
							1 Coli B	< 50	< 50	50	100 (250)	
							1 Coli B	< 50	< 50	< 50	< 50	
V. L. A.	2. 11.	25	25	100	8. 11.	7	1 Coli A	250	(50)	100 (250)	(50)	
							1 Coli B	(50)	(50)	50 (100)	100	
							3 Coli A, 2 Coli B	< 50	< 50	< 50	< 50	
VI. H. B.	15. 11.	100	50	50	30. 11.	7	1 Vibrio	100	(50)	(50)	< 50	
							1 Coccus	< 50	50 (100)	< 50	< 50	
							1 Coli B	50	(50)	< 50	< 50	
							2 Faecal. alcaligen., 2 Coli B	< 50	< 50	< 50	< 50	
VII. C. S.	30. 11.	50	(50)	100	28. 11.	9	1 Coli B	100 (250)	< 50	100	100 (250)	
							8 Coli B	< 50	< 50	< 50	< 50	
VIII. E. W.	19. 12.	25 (50)	.	.	19. 12.	17	4 Coli B	5000	1000	> 50	.	500
							1 Coli A, 12 Coli B	< 50	.	< 50	.	< 50
IX. C. V. S.	15. 2. 13	25	25	50 (100)	16. 2. 13	22	2 Coli B	100	50	50	.	(50)
							7 Coli B	50 (100)	< 50	50	.	< 50
							12 Coli B, 1 Coli A	< 50	< 50	< 50	.	< 50
X. O. T.	20. 2.	25	25	50 (100)	19. 2.	12	2 Coli B	500	250	100	.	100
							10 Coli B	< 50	< 50	< 50	.	< 50

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Faeces besäten Agarplatten fand sich in der Regel eine agglutinable Kultur.

Es ist somit festgestellt worden, daß bei allen Menschen, deren Sera Dysenteriebacillen dieser Gruppen agglutinieren und deren Stühle untersucht wurden, Bakterien nachgewiesen werden können, welche in den entsprechenden Dysenterieimmunsera mehr oder weniger stark agglutiniert werden.

Es wäre nunmehr von Interesse, festzustellen, inwieweit auch das Gegenteil der Fall ist, und zwar, inwieweit in den Faeces der Individuen, deren Sera die besprochenen Dysenteriebacillen nicht agglutinieren, auch Bakterien vermißt werden, welche in den entsprechenden Dysenterieimmunsera agglutiniert werden.

Ich habe die Stühle vier solcher Menschen, deren Sera Rg. 150 und Rg. 216 bei 1 : 25 nicht agglutinierten, untersucht und habe keine dysenterieparagglutinablen Bakterien vorgefunden; es hat jedoch dies selbstredend nicht denselben Wert, wie das positive Resultat der Untersuchung in Fällen, wo Serum agglutiniert; man vermag ja doch nicht alle Bakterien des Darmes zu untersuchen.

Kuhn, Gildemeister und Woithe sind — wie erwähnt — der Ansicht, daß dysenterieparagglutinable Bakterien vorwiegend im Darmkanal solcher Menschen vorgefunden werden, die von einer Dysenteriebacilleninfektion betroffen sind; die normalen Darmbakterien sollen durch den Aufenthalt im Darme zusammen mit Dysenteriebacillen auf irgendeine Weise eine Rezeptorgemeinschaft mit den letzteren erlangen; zwar fanden Kuhn, Gildemeister und Woithe nur Dysenteriebacillen bei einem der 9 Individuen, bei denen paragglutinable Bakterien nachgewiesen wurden; da sie sich aber alle neun in demselben Irrenhause aufhielten, wo gerade Dysenterie herrschte, und sie demnach vielleicht einen unbeobachteten Dysenterieanfall gehabt haben konnten — es ließ sich von einigen genannten Individuen tatsächlich ermitteln, daß sie Diarrhöe gehabt hatten — so halten sich Kuhn, Gildemeister und Woithe gleichwohl für berechtigt, den von ihnen vertretenen Standpunkt zu verfechten.

Falls ihre Auffassung richtig ist, und angenommen werden kann, daß auch die von mir untersuchten 10 Individuen Dysenterie gehabt hätten, weil dysenterieparagglutinable Bakterien bei ihnen vorgefunden wurden, dann wäre ja das ganze Problem einfach genug. Dagegen läßt sich aber anführen, daß alle 10 Individuen, die sehr genau ausgefragt wurden und von denen keiner geisteskrank war, keine dysenterieähnlichen Symptome dargeboten haben wollten und auch nicht — soweit es sich ermitteln ließ — mit Dysenteriekranken in Berührung gewesen waren. Uebrigens war auch Rimpau, der gleichfalls bei 8 Individuen dysenterieparagglutinable Bakterien vorfand, nicht imstande, irgendwelche Anhaltspunkte für Dysenterie bei den Patienten oder in ihrer Umgebung aufzufinden.

Ein so häufiges Vorkommen der Dysenterieinfektionen scheint auch a priori ganz unwahrscheinlich und stimmt keineswegs mit der Häufigkeit des Dysenteriebacillenbefundes überein.

Ehe ich auf diejenigen Untersuchungen näher eingehe, welche ich angestellt habe, um zu prüfen, ob zwischen dem Vorkommen von dysenterieparagglutinablen Bakterien des Darmes und dem positiven Ausfall der Agglutination mit dem Blutserum irgendwelche Verbindung besteht, muß ich über den Verlauf einer auf Kaninchen vor-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

genommenen Injektion eines paragglutinablen Bakterienstammes Bericht erstatten.

Kuhn, Gildemeister und Woithe haben gezeigt, daß nach der Vorbehandlung von Kaninchen mit lebenden oder getöteten Kulturen dieser Bakterien ein Immunserum gebildet wird, welches imstande ist, nicht nur den injizierten Stamm, sondern auch die entsprechenden Dysenteriebacillen zu agglutinieren; was die letzteren betrifft, so erfolgt zwar die Agglutination in der Regel nicht bis zur Titergrenze, auch ist von den Verfassern nachgewiesen worden, daß auch andere dysenterieparagglutinabel Bakterien durch dieses Serum agglutiniert werden, jedoch ebenfalls nicht bis zur Titergrenze.

Dieselben Eigenschaften habe ich auch bei einigen der von mir gefundenen Bakterien nachweisen können.

Der bei No. I gefundene Coli B, welcher in Serum „Helsingör" bis zu 1000 und in Serum „Frederihshavn" bis zu 100 agglutiniert wird, wurde in lebender Bouillonkultur einem Kaninchen intravenös eingespritzt, dessen Serum hierdurch Rg. 150 bis zur Verdünnung $^1/_{500}$ und Rg. 216 bis zu $^1/_{500}$ ($^1/_{1000}$) agglutinierte. Ein auf ähnliche Weise durch den zuerst gefundenen paragglutinablen Bacillus hergestelltes Serum beeinflußte sowohl Rg. 150 als Rg. 216 bis zu $^1/_{50}$. In einem dieser Sera (welche der Kürze halber im nachfolgenden „P-Serum" und „1055-Serum" genannt werden sollen, während die entsprechenden Coli-Stämme Coli „P" und Coli „1055" heißen), wurden ferner mehrere der von den 10 Individuen gezüchteten Bakterien geprüft; wie aus der Tabelle hervorgeht, wird nur einer (1 Coli B aus No. IV) der Stämme, welche in Dysenterieserum nicht agglutiniert werden, hierin agglutiniert, wohingegen die meisten paragglutinablen Stämme, und zwar sämtliche in Dysenterieserum einigermaßen stark agglutinierende Stämme in diesem Serum auch agglutiniert werden.

Einer der Stämme aus No. IV, welcher bis zu 100 (250) in Serum 1055, aber <50 in den beiden Dysenterieseris agglutiniert wird, zeigt einen Agglutinationswert von $^1/_{50}$ in dem Serum des Individuums selbst; möglicherweise würde er in den Dysenterieseren in einer schwächeren Verdünnung agglutinieren, oder es handelt sich hier um ein ganz anderes Agglutinin.

Es geht ferner aus diesen Agglutinationsversuchen (s. die Tabelle) hervor, daß bei den verschiedenen Individuen nicht derselbe Coli-Bacillus paragglutinabel ist. Obgleich nämlich der mit P bezeichnete Coli-Stamm ein Coli B ist, so vermag sein Immunserum dennoch nicht die anderen Coli B bis zur Titergrenze zu agglutinieren. Von 5 anderen dysenterieparagglutinablen Coli-Bacillen habe ich ein Immunserum hergestellt; jeder derselben agglutiniert nur seinen entsprechenden Stamm bis zur Titergrenze, jedoch selbstredend nicht in Fällen, wo 2 oder mehrere Bakterien desselben Individuums übrigens gleich sind, wie z. B. in No. III, wo 2 Coli B dieselbe Agglutination in Dysenterieserum aufweisen; es wird auch der eine Coli B von dem Serum des anderen bis zur Titergrenze agglutiniert; dagegen werden aber die anderen Coli B derselben Faecesprobe überhaupt nicht in diesem Serum agglutiniert.

Dysenterieparagglutinable Bakterien sind also imstande, durch parenterale Einspritzung im Blute des Kaninchens Dysenterieagglutinin hervorzubringen. Es fiel mir dann der Gedanke ein, daß sich vielleicht bei Einverleiben der paragglutinablen Bakterien per os Dysenterieagglutinin im menschlichen Blute hervorrufen ließe. Wäre dies möglich, dann würde für das gleichzeitige Vorkommen von Dysenterieagglutinin im Blute und von dysenterieparagglutinablen Bakterien im Stuhl bei Individuen, die keine Zeichen von Dysenterie darboten, eine weit natürlichere Erklärung als die Annahme einer Dysenteriebacilleninfektion gegeben sein.

Es war indessen kein leichtes, Individuen herbeizuschaffen, die für einen solchen Versuch brauchbar waren; erstens durfte das Serum dieser Individuen Dysenteriebacillen nicht agglutinieren, was ziemlich selten der Fall war, wenn die Agglutination bloß unter 25 sein soll; und zweitens war der Genuß einer lebenden Bakterienkultur und die häufige Entnahme von Blutproben mit einer unüberwindlichen Unlust bei mehreren Personen verbunden. Es gelang mir nur 3 Menschen aufzutreiben, deren Blut Dysenteriebacillen nicht agglutinierte, und die sich mir zur Verfügung stellen wollten.

Einer der Versuche mißlang gänzlich; nachdem das Individuum 10 ccm einer Bouillonkultur von Coli P eingenommen hatte, bekam es einen ziemlich starken Durch-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle B.

Einige Versuche durch Einverleiben paragglutinabler Colikultur per os, Agglutininbildung hervorzurufen.

Serumuntersuchungen					Facesuntersuchung									
Datum	Tag n. Eingabe der Kultur	Agglutination der Bacillen			Datum	Tag n. Eingabe der Kultur	Unter-suchte Kolo-nieen	Art der Bacillen	Agglutination der Bacillen in Serum					
		Rg. 150	Rg. 216	Coli P					„Hel-singör“	„Fre-deriks-havn“	eigenes Serum vom		Coli P	Coli III
Versuchsperson 2.														
26. 11. 12	.	< 25	< 25	< 25										
3. 12. 12	.	< 25	< 25	.	3. 12. 12	.	8	4 Coli B, 4 Paracoli	< 50	< 50	3. 12. 12	< 50	< 50	
6. 12. 12 werden 10 ccm 24-stündige Bouillonkultur von Coli P getrunken.														
					8. 12. 12	2	12	4 Coli B	10 000	500		.	5000	
								7 mit roter Kolonie	< 50	.		.	< 50	
								1 mit blauer Kolonie	< 50	.		.	< 50	
					9. 12. 12	3	5	4 Coli B	10 000	250	11. 12. 12	(50)	5000	
								1 mit blauer Kolonie	< 50	.	11. 12. 12	< 50	< 50	
11. 12. 12	5	< 25	< 25	< 25	10. 12. 12	4	6	3 Coli B	10 000	250	12. 12. 12	(20)	5000	
12. 12. 12	6	25	< 25	< 25				3 Coli B	< 50	.	12. 12. 12	< 50	< 50	
13. 12. 12	7	25 (50)	(25)	25	13. 12. 12	7	7	2 Coli B	10 000	250	16. 12. 12	50	5000	
14. 12. 12	8	25 (50)	25	25				4 Coli B	< 50	.	16. 12. 12	< 50	< 50	
16. 12. 12	10	25 (50)	.	25				1 Paracoli	< 50	.	16. 12. 12	< 50	< 50	
19. 12. 12	13	25 (50)	25	.	18. 12. 12	12	20	1 Coli B	500	250	23. 12.	100	100	
								3 Coli B	250		23. 12.	< 50	50	
23. 12. 12	17	25 (50)	50	25				1 Coli B	100		19. 12.	(50)	100	
								1 Coli B	50		19. 12.	< 50	< 50	
28. 12. 12	22	50 (100)	100	25 (50)				1 Coli B	< 50		19. 12.	< 50	50	
								9 Coli B, 1 Coli A, 3 Paracoli	< 50		19. 12.	< 50	< 50	
18. 1. 13	43	25	25 (50)	(25)	19. 1. 13	44	8	1 Coli A, 4 Coli B, 4 Paracoli	< 50	< 50	10. 1. 18	< 50	< 50	
Versuchsperson 3.														
12. 12. 12	.	< 25	< 25	< 25	14. 12. 12	.	15	15 Coli B	< 50	< 50	16. 12. 12	< 50	.	< 50
19. 12. 12	.	25 (50)	.	(25)	19. 12. 12	.	17	4 Coli B	5000	1000	19. 12.	> 50	500	50
								12 Coli B, 1 Coli A	< 50	.	19. 12.	< 50	.	< 50
19. 12. 12 werden 10 ccm 24-stündige Bouillonkultur von Coli III getrunken.														
24. 12. 12	5	50 (100)	25	25	22. 12. 12	3	10	4 Coli B	1000	1000	24. 12. 12	50 (100)	500	50
28. 12. 12	9	50	100	25				1 Coli B	50 (100)	< 50	24. 12. 12	50	.	5000
								5 Coli B	< 50	< 50	24. 12. 12	< 50	.	< 50
18. 1. 13	30	(25)	(25)	< 25										

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

fall, der 2—3 Tage hindurch fortdauerte; während desselben wird es wahrscheinlich den Bacillus schnell wieder ausgeschieden haben; es gelang mir nicht trotz wiederholter Untersuchung des Stuhls in den Tagen nach der Eingabe die Bakterien wiederzufinden. Der Durchfall war dabei vielleicht gar nicht von den Bacillen bedingt; da die Mutter der Versuchsperson gleichzeitig dieselben Symptome darbot, ist eher anzunehmen, daß die Diarrhöe bei beiden einen andern Ursprung gehabt hat. Die Versuchsperson No. 2, welche dieselbe Bakterie eingenommen hatte, wies auch keine Andeutung von Diarrhöe oder irgendwelcher anderer Störung auf.

Der Versuch wurde übrigens in folgenderweise angestellt: Die Bakterien wurden nur einmal eingegeben, und zwar 10 ccm einer 24-stündigen lebenden Bouillonkultur in $^1/_2$ Glas Milch 4—5 Stunden nach der Mahlzeit, um den schädigenden Einfluß der Magensäure möglichst zu vermeiden; auch wurde im Anschluß daran ein Teelöffel voll Magnes. bicarb. gereicht. Der Darmflora war selbstredend zuvor untersucht worden.

Das Resultat der Fütterungsversuche findet sich auf der Tabelle B.

Für die Versuchsperson 2 wurde eine Burri-Kultur des Coli P angewandt, damit der Versuch möglichst rein gemacht werden konnte. Es sei bemerkt, daß sich dieselbe ganz wie die Kultur vor der Reinzüchtung nach Burri verhielt.

Als Hilfsmittel bei dem Nachweis der Bakterien in den Faeces dienten teils die kulturellen Unterscheidungsmerkmale und teils die Agglutination mit dem Stamm entsprechenden Immunserum.

Das Blut wurde zuerst am 26. Nov. und 3. Dez. untersucht; beide Male wurden Rg. 150 und Rg. 216 <25 agglutiniert. Die Einnahme der Kultur fand am 6. Dez. statt; 5 Tage nachher agglutiniert das Blut noch nicht die Dysenteriebacillen; am 6. Tage erfolgte Agglutination bei $^1/_{25}$ bei Stamm Rg. 150; bei Rg. 216 trat noch keine ein. Am 7. Tage wird Rg. 150 schwach bei $^1/_{50}$ und Rg. 216 schwach bei $^1/_{25}$ agglutiniert, und den 8. Tag ist die letztere deutlich bei $^1/_{25}$ geworden. Am 10. und 13. Tage ist die Agglutination weiter unverändert, am 17. Tage ist sie aber mit Rg. 216 bis auf $^1/_{50}$ und endlich am 22. Tage mit Rg. 150 bis auf $^1/_{100}$ (schwach) und mit Rg. 216 bis auf $^1/_{100}$ (deutlich) gestiegen. Im ganzen ist also eine sichere und gleichmäßige Steigerung des Agglutiningehalts beobachtet worden.

Am 43. Tage ist derselbe wieder erkennbar abgesunken. Was die Darmflora betrifft, so wurden, ehe die Kultur gegeben war, keine in Dysenterieserum agglutinablen Bakterien vorgefunden. Schon 2 Tage nachher werden solche aufgefunden, ebenso am 3., 4., 7. und vereinzelt am 12. Tage, während am 44. Tage wieder keine vorgefunden wurden. Die nachgewiesenen paragglutinablen Bakterien sind jedenfalls bis zum 7. Tage inklusive als mit dem eingegebenen Stamm sicher identisch aufzufassen; sie sind in kultureller Beziehung alle Coli B und werden alle von Coli P-Serum bis zur Titergrenze ($^1/_{5000}$) agglutiniert. Wie ich vorausgesehen hatte, gelangten die aufgefundenen paragglutinablen Bakterien nach und nach dazu, von dem Serum der Versuchsperson selbst sehr beträchtlich (bis auf 100 am 17. Tage) agglutiniert zu werden.

Außerdem wird aber eine sehr interessante Eigentümlichkeit beobachtet, die mir anfangs sehr überraschend kam, bei weiterem Nachdenken sich aber eben als eine für die Agglutininbildung erforderliche Erscheinung auffassen läßt: die Agglutinabilität des eingegebenen Colibacillus in den 2 Dysenterieseris wurde nämlich bei der Passage durch den Darm beträchtlich gesteigert.

Am Tage, wo die Kultur getrunken wurde, betrug die Agglutination $^1/_{1000}$ mit dem Gruppe I-Serum („Helsingör") und $^1/_{50}$ mit dem Gruppe II-Serum („Frederikshavn"); nach der Passage, und somit nur nach einem 2×24-stündigen Aufenthalt im Darm, war sie auf bzw. $^1/_{10000}$ und $^1/_{500}$ in den beiden Dysenterieseris erhöht.

Am 12. Tage werden keine Bakterien, welche in Dysenterieserum eine so starke Agglutination aufweisen, vorgefunden, gleichzeitig aber auch keine Coli, welche in Coli P-Serum bis zu Titer agglutiniert werden, obgleich reichliche Mengen von Coli B vorhanden sind; dahingegen werden einzelne, in verschiedenem Grade von den verschiedenen Seris agglutinierte Bakterien nachgewiesen.

Es ist demnach möglich, daß man nur in den ersten Tagen nach der Eingabe einer dysenterieparagglutinablen Kultur im Darme Bakterien vorfindet, welche in Dysenterieserum sehr stark agglutiniert werden. Dementsprechend habe ich auch nur selten (s. Tabelle A) derartige paragglutinablen Bakterien mit starker Agglutinabilität in Dysenterieserum vorgefunden, wogegen sie mit Agglutination in schwachen Serumverdünnungen so außerordentlich häufig sind.

Inwieweit diese am 12. Tage gefundenen Coli B Abkömmlinge der ursprünglichen Kultur sind, oder andere Coli B, welche Eigentümlichkeiten von den ersteren empfangen haben, darüber läßt sich nichts Bestimmtes sagen; meiner Ansicht nach ist das ein

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ebenso gut möglich wie das andere; wenn es die ursprünglichen wären, hätten sie allerdings zum Teil ihr Agglutinationsvermögen in dem homologen Serum eingebüßt, was übrigens nicht besonders zu verwundern sein würde. Es werden sehr selten zwei Coli-Bacillen beobachtet, welche bis zur Titergrenze in dem heterologen Serum agglutiniert werden, obgleich zwar ohne Zweifel ein reger Austausch von Coli-Bacillen zwischen den verschiedenen Menschen stattfindet; nur scheint es sehr wohl denkbar, daß ein Coli-Bacillus bei Aufenthalt in dem Darm eines anderen Menschen in bezug auf Agglutination — und vielleicht auch in anderen Beziehungen — nach und nach ganz umgebildet werden kann.

Der mit der dritten Person angestellte Versuch mißlang gewissermaßen, scheint aber doch in einigen Beziehungen dasselbe Resultat zu geben.

Es war meine Absicht, hier eine Kultur mit noch schwächerer Agglutinationsfähigkeit zu verwenden, um zu prüfen, ob auch die Agglutinabilität dieser Kultur vermehrt wurde. Die Kultur rührte von dem Individuum No. III (Tabelle A) her und wurde, ehe sie eingenommen wurde, bis $^1/_{100}$ von dem Serum „Helsingör" und bis auf $^1/_{50}$ (schwach) von dem Serum „Frederikshavn" agglutiniert.

Das Serum des Versuchsindividuums vom 12. Dez. (siehe Tabelle B) agglutinierte Rg. 150 und Rg. 216 $< {}^1/_{25}$. Unmittelbar ehe die Kultur eingenommen wurde, am 19. Dez., erhielt ich eine weitere Blut- und Faecesprobe von der Versuchsperson. Bei der Untersuchung dieser Blutprobe stellte sich indessen heraus, daß das Serum Rg. 150 schwach bei $^1/_{50}$ agglutinierte und bei der Faecesuntersuchung wurden dann auch dysenterieparagglutinable Bakterien vorgefunden, was am 14. Dez. — 5 Tage zuvor — nicht der Fall gewesen war. Es muß daher angenommen werden, daß das Individuum im Laufe dieser 5 Tage zufälligerweise mit paragglutinablen Bakterien infiziert wurde. Diese Bakterien wurden in Dysenterieserum stark agglutiniert, und zwar bei $^1/_{5000}$ von dem Serum „Helsingör" und bei $^1/_{1000}$ von dem Serum „Frederikshavn", insoweit also ganz in Uebereinstimmung mit der früher ausgesprochenen Vermutung, daß Bakterien mit starker Agglutinabilität in Dysenterieserum meistens während der ersten Tage, nachdem die dysenterieagglutinablen Bakterien eingenommen worden sind, im Darme vorgefunden werden.

Daß sich diese Bakterien wahrscheinlich am 19. Dez. allerhöchstens 4—5 Tage im Darme aufgehalten haben, stimmt also ganz damit überein, daß ihr Serum nur noch ziemlich schwach Dysenteriebacillen agglutiniert; 5 und 9 Tage später ist diese Agglutination stärker geworden, um schließlich 30 Tage nachher wieder ganz schwach zu sein.

Bei der Faecesuntersuchung am 22. Dez. wird wieder ein Coli B, welcher ziemlich stark, obgleich kaum so stark wie voriges Mal, in Dysenterieserum agglutiniert wird, vorgefunden; jetzt, bei der ersten Faecesuntersuchung nach der 3 Tage zuvor eingenommenen Bouillonkultur, von dem Individuum No. III (Tabelle A) herrührend, findet sich zugleich dieser Coli B dadurch erkennbar, daß er mittels des homologen Serums bis zur Titergrenze $^1/_{5000}$ agglutiniert wird. Seine Agglutinabilität dem Dysenterieserum gegenüber ist jedoch durch die Passage nicht vermehrt worden, wie ich es erwartet hatte. Dies braucht aber nicht mit dem vermuteten Resultat des vorigen Versuches im Widerspruch zu stehen; mir scheint vielmehr eine Möglichkeit vorzuliegen, daß eben diese beiden Versuche miteinander übereinstimmen. Ist nämlich die Sachlage diese — was nach dem vorigen und auch nach diesem letzten Versuche nicht unwahrscheinlich ist —, daß ein Zeitpunkt eintritt, wo die Bakterien im Darme ihre früher gewonnene Agglutinationsfähigkeit dem Dysenterieserum gegenüber zu verlieren anfangen, und zwar vielleicht wegen besonders eigentümlicher Reaktionsveränderungen im Organismus, dann besteht ja kein Widerspruch darin, daß eine Bakterie an Agglutinationsgehalt nicht zunimmt an einem Zeitpunkte, wo eben dasselbe Agglutinogen bei einer anderen Bakterie von demselben Organismus zum Abnehmen beeinflußt wird.

Die Versuche, welche ich angestellt habe, um Dysenterieagglutinine im Serum normaler Menschen hervorzurufen, ohne daß die Individuen einer Dysenteriebacilleninfektion ausgesetzt werden oder überhaupt mit Ruhrbacillen in Berührung kommen, sind leider wegen der besonders großen Schwierigkeiten nicht sehr umfassend gewesen; mit dem Befund von dysenterieparagglutinablen Bakterien in den Faeces bei Individuen, deren Serum gleichzeitig Ruhrbacillen agglutiniert, zusammengehalten, muß jedoch alles entschieden dahin gedeutet werden, daß das häufige

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Vorkommen einer oft sogar recht beträchtlichen Menge Dysenterieagglutinine im Blute verschiedener Menschen in der Regel mit einer Ruhrbacillen infektion nichts zu tun hat, sondern als eine gewöhnlich vorkommende Erscheinung bei absolut darmgesunden Individuen zu betrachten ist.

Wenn der häufige Befund von Dysenterieagglutininen im Blute gesunder Menschen auf das Vorhandensein dysenterieparagglutinabler Bakterien im Darme mit Recht zurückzuführen sein sollte, dann steht dies im Widerspruch mit der von Kuhn, Gildemeister und Woithe gehegten Auffassung von der Paragglutination.

Wie erwähnt, haben diese Verfasser beobachtet, daß paragglutinable Bakterien bei längerer Aufbewahrung (von $^1/_2$—1 Jahr) vollständig ihre Paragglutinabilität einbüßen, und sie meinen, daß dieser Verlust den schönsten Wahrscheinlichkeitsbeweis liefere, daß es sich um eine erworbene Eigenschaft gehandelt habe, welche die Bakterien nur dann gewinnen können, wenn sie mit anderen Bakterien, denen das entsprechende Agglutinogen typisch ist, in casu[1]) Dysenteriebacillen, in Verbindung treten, und daß man daher dysenterieparagglutinable Bakterien nur bei Ruhrpatienten oder in deren Umgebungen vorfindet.

Ist es denn aber festgestellt, daß paragglutinable Bakterien immer ihr Paragglutinogen verlieren, wenn sie nicht mehr dem Einfluß der entsprechenden artfremden Bakterien ausgesetzt sind? Wenn sich bloß gelegentlich statt dessen eine Steigerung desselben nachweisen ließe, dann wäre damit die Abhängigkeit der Dysenterieparagglutination von dem Vorhandensein der Dysenteriebacillen jedenfalls von weit geringerer Bedeutung, als es von Kuhn, Gildemeister und Woithe angenommen wird.

Keine der von mir gefundenen paragglutinablen Bakterien habe ich ein ganzes Jahr hindurch beobachtet, die Maximumszeit beträgt 10 Monate.

Im Laufe des genannten Zeitraumes ist die Agglutinabilität der Bacillen dem Dysenterieserum gegenüber zu wiederholten Malen geprüft worden. Nur einzelne der Stämme haben dann die Agglutinabilität vollständig verloren; die Mehrzahl ist immer annähernd gleich stark agglutiniert, und nur bei einigen wenigen ist die Agglutinabilität vermehrt worden (z. B. von 500 [1000] bis auf 5000). Inwieweit dies aber nur anscheinend stattfindet, und inwieweit z. B. andere Kulturen derselben Bacillen möglicherweise ein anderes Resultat geben würden, wie es von Madsen und Jörgensen bei Agglutination der Coli-Bacillen in Coli-Seris beobachtet worden ist, läßt sich selbstredend nicht entscheiden; um hierüber ins klare zu kommen, müßten sehr umfassende Versuche mit langen Reihen ganz gleich angelegter Kulturen desselben Bacillus vorgenommen werden, und zwar sowohl bei der Isolierung der Bacillen als auch später bei jeder Untersuchung. Nichtsdestoweniger dürfte es jedoch nicht ohne Bedeutung gewesen sein, daß ich gelegentlich Kulturen von einem und demselben Bacillus nach längerer Aufbewahrung als Reinkultur in einem Laboratorium stärker paragglutinabel als gleich bei der Isolierung vorgefunden habe.

	Agglutination in Serum „Helsingör“	
	Stamm 1	Stamm 2
23. Nov. 1912	1000	500 (1000)
Nach täglichem Umsäen in 8 Tagen	1000	1 000
„ „ „ „ 18 „	100	2 500
„ „ „ „ 36 „	<50	10 000

1) Paragglutination ist nämlich nicht eine allein für das Dysenterieagglutinogen typische Erscheinung. So haben z. B. Ditthorn und Neumark den Befund einer Reihe von Coli-Bacillen, welche in verschiedenen Immunseris (Typhus, Paratyphus A und B, Bac. enteritidis Gärtner usw.) paragglutinabel sind, beschrieben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Auch bei täglichem Umsäen in Bouillon von einem paragglutinablen Coli-Stamm habe ich eine Steigerung der Paragglutinabilität beobachtet. Untenstehende Versuche beziehen sich auf zwei täglich umgesäte paragglutinable Coli-Bacillen, welche anfangs ziemlich gleich stark von Dysenterieserum agglutiniert wurden.

Da die Paragglutinationsfähigkeit des ersteren Coli-Stammes bei täglichem Umsäen in 36 Tagen vollständig verloren gegangen war, während diejenige des letzteren am wenigsten um das 10-fache gestiegen ist, so ergibt sich hieraus, daß es kaum möglich sein wird, im voraus zu entscheiden, ob in einem gegebenen Falle eine Steigerung oder ein Sinken der Paragglutinabilität stattfinden wird.

Sowohl bei Passage durch den Darm eines gesunden Menschen (s. p. 74) als auch bei fortgesetzter Züchtung auf künstlichem Nährboden habe ich also gelegentlich eine beträchtliche Steigerung der Paragglutinabilität beobachtet, und es könnte demnach sehr wohl möglich sein, daß eine fortgesetzte Uebertragung von sehr stark paragglutinablen Bakterien durch endlos lange Reihen von Individuen durchgeführt werden könnte, damit Paragglutinationen bei Personen gefunden werden, ohne daß diese je mit Dysenteriebacillen in Verbindung gekommen sind.

Die von Kuhn, Gildemeister und Woithe gehegte Anschauung, daß durch den Verlust der Paragglutinabilität ein Wahrscheinlichkeitsbeweis dafür geliefert ist, daß dysenterieparagglutinable Bakterien nur bei Dysenteriepatienten oder deren Umgebungen vorkämen, ist damit nicht stichhaltig.

Inwieweit die Paragglutinabilität durch Berührung mit den artfremden Bakterien, in casu Dysenteriebacillen, erworben ist, wird somit — jedenfalls praktisch gesprochen — eine Frage von recht unwesentlicher Bedeutung.

Ueber die Möglichkeiten, eine Infektion mit Dysenteriebacillen der Gruppe I und II durch die Agglutination mit Patientenserum konstatieren zu können.

Es ist mir nicht möglich gewesen, über den Maximumswert der per os durch dysenterieparagglutinable Bakterien bei normalen Menschen hervorgerufenen Agglutination Untersuchungen anzustellen. Unter den 80 Seris, mit denen die Wassermannsche Reaktion angestellt werden sollte, habe ich 2 gefunden, die Rg. 150 bis $^1/_{500}$ agglutinierten, und wie aus der Uebersicht (p. 67) hervorgeht, habe ich unter 169 ähnlichen Seris in ca. 8 Proz. der Fälle eine Agglutination bei $^1/_{250}$ und darüber mittels desselben Bakterienstammes, und unter 116 Seris dieselbe Agglutination mit dem Stamm Rg. 216 in ca. 3 Proz. der Fälle beobachtet.

Obgleich zwar bei keinem dieser Individuen, deren Sera eine so starke Agglutination aufweisen, Anhaltspunkte vorliegen über eine eventuelle Darminfektion, und dies also nicht als endgültiger Beweis dafür dienen kann, daß die Agglutination in Seris normaler Menschen diesen Stärkegrad erreichen kann, so unterlag es doch nach den angestellten Untersuchungen keinem Zweifel, daß man im allgemeinen durch eine einfache Agglutinationsprobe mit diesen Stämmen nicht berechtigt ist, eine entsprechende Dysenteriebacilleninfektion anzunehmen, ohne daß die Reaktion jedenfalls bedeutend stärker ist als in der Serumverdünnung $^1/_{100}$ (d. h. die von Lentz festgesetzte Grenze).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Eine wie starke Agglutination ist denn bei Individuen, die mit Sicherheit durch diese Dysenteriebacillen infiziert sind, beobachtet worden?

Ich habe nur bei einer sehr kleinen Zahl von Patienten, die mit diesem Dysenteriebacillus infiziert waren, Serumuntersuchungen angestellt, und zwar deshalb, weil große Schwierigkeiten mit der Beschaffung des Blutes von Patienten, welche von verschiedenen Gegenden herrührten und oft nicht im Spital behandelt wurden, verbunden waren.

In einem Falle habe ich die Agglutination bei $^1/_{1000}$, in einem bei $^1/_{250}$, in zweien bei $^1/_{100}$ und in einem bei $^1/_{50}$ vorgefunden.

Die Agglutination $^1/_{1000}$ bei Patientenseris ist früher von Amako und Lentz beobachtet worden. Bauer, Ellenbeck und Fromme haben neuerdings dieselbe bei einzelnen infizierten Kindern bis $^1/_{1600}$ angetroffen. Vedder und Duval, Jürgens u. a. haben Agglutination bis $^1/_{500}$ gesehen; allein selbst wenn eine Agglutination $^1/_{500}$ und darüber vielleicht nicht ganz selten sein mag, scheint sie doch in der Regel nicht so stark zu werden und hält sich gewöhnlich auf gleicher Höhe mit der Typhusbacillenagglutination mit Patientenserum bei Typhus (Raubitschek), wo sie meist nicht höher als bis auf $^1/_{100}$—$^1/_{250}$ steigt.

Falls das Agglutinationsresultat nur bei stärkerer Agglutination als dieser letzten von diagnostischem Werte ist, könnte es den Anschein haben, als ob die Agglutinationsprobe in den meisten Fällen für die Diagnose bedeutungslos sei.

Ich habe indessen mehrere Beobachtungen gemacht, die vielleicht dahin gedeutet werden könnten, daß sich unter gewissen Umständen die Reaktion in weiterem Umfange ausnützen läßt. Obgleich ich nicht soweit gekommen bin, mich mit Bestimmtheit hierüber auszusprechen, dürften jedoch meine unten folgenden Erwägungen und Untersuchungen ein gewisses Interesse beanspruchen.

Ist das der Paragglutination entsprechende Agglutinogen als spezifisches Dysenteriebacillenagglutinogen aufzufassen?

Wie oben erwähnt, werden die gewöhnlich vorkommenden menschlichen Sera, welche eine Dysenteriebacillenkultur agglutinieren, in der Regel auch eine dysenterieparagglutinable Bakterienkultur agglutinieren. In wie weitem Umfang dies der Fall ist, habe ich untersucht, indem ich gleichzeitig die Agglutination der Stämme Rg. 150, Rg. 216 und Coli P mit den Seris von Menschen, bei denen keine Anhaltspunkte für eine Darminfektion vorlagen, geprüft habe.

73 Menschensera			
28 Aggl. < 50 von Dysenteriebacillen		45 Aggl. 50 und darüber von Dysenteriebac.	
27 Aggl. < 50 des Coli P	1 Aggl. (50) des Coli P	39 Aggl. 50 und darüber des Coli P	6 Aggl. < 50 des Coli P

Wie aus dem Schema hervorgeht, findet sich hier eine sehr gute Uebereinstimmung. Wäre die Agglutination auch in noch schwächerer Verdünnung als $^1/_{50}$ geprüft, was indessen wegen der geringen Menge des zur Verfügung stehenden Serums nicht möglich war, dann würde die Uebereinstimmung vielleicht noch besser geworden sein. Es ging ferner aus dem Versuche hervor, daß eine stärkere Agglutination des Coli P in der Regel auch einer stärkeren Agglutination der Dysenteriebacillen entspricht — und vice versa.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Während also der Coli P und wenigstens eine der 2 Dysenteriebacillenkulturen am häufigsten ziemlich gleich stark von diesen Menschensera agglutiniert wurden, verhält sich dagegen die Agglutination durch Kaninchen-Dysenterieimmunsera[1]) ganz anders. Hier wurde, wie erwähnt, Coli P in Serum „Helsingör" bis zu $^1/_{1000}$ und in Serum „Frederikshavn" bis zu $^1/_{100}$ agglutiniert, während die diesen Seris entsprechenden Dysenteriebacillen bis $^1/_{10000}$ und $^1/_{5000}$ agglutiniert wurden.

Daß ein Dysenteriebacillus und ein paragglutinabler Coli-Bacillus in dem Serum eines normalen Menschen gleich stark agglutiniert werden können, während ein Dysenteriebacillenimmunserum eines Kaninchens den Dysenteriebacillus weit stärker als den Coli-Bacillus agglutiniert, läßt unter anderem folgende Erklärungen zu: Es kann sich hier um 2 verschiedene Agglutinogene handeln: 1) um ein Dysenteriebacillenagglutinogen, welches nur die Dysenteriebacillen besitzen, und 2) um ein für die Dysenteriebacillen und die dysenterieparagglutinablen Bakterien gemeines Agglutinogen; letztere Bakterien haben selbstredend außerdem ihr eigenes für die verschiedenen Bakterien verschiedenes, spezifisches Agglutinogen.

Schon von Kuhn, Gildemeister und Woithe ist diese Möglichkeit — obgleich von anderen Betrachtungen ausgehend — in Erwägung gezogen worden, und sie haben mehrere Absättigungsversuche nach Castellani angestellt. Sie haben versucht, das Agglutinin aus dem Dysenterieserum mittels einer dysenterieparagglutinablen Kultur zu absorbieren. Es stellte sich dabei heraus, daß sie regelmäßig dem Serum etwas Agglutinin entzogen, so daß der Titer desselben Dysenteriebacillen gegenüber z. B. von 10000 bis 3000 hinabsank.

Aus dieser Tatsache meinten sie folgern zu dürfen, daß nur von einer Art Agglutinogen die Rede sein könne.

Auch ich habe eine Absorption mit einzelnen der von mir gefundenen Kulturen versucht. Mein Verfahren war hier folgendes: Einem mit physiologischer Kochsalzlösung auf $^1/_{50}$ verdünnten Dysenterieserum habe ich eine reichliche Menge von einer Agarkultur der betreffenden paragglutinablen Bakterien hinzugefügt und danach das Röhrchen 3 Stunden lang bei 37° gelassen; hiernach wurde kräftig zentrifugiert und dann die Untersuchung der oberen klaren Serumverdünnung vorgenommen. Die Agglutinationsfähigkeit des Serums wurde immer auch unmittelbar vor dem Versuch geprüft.

Ich habe 3 verschiedene paragglutinable Coli-Kulturen: M, N und O, sowie 6 Dysenteriestämme: „Helsingör", Rg. 215 und „Y" (aus der Gruppe I) und „Frederikshavn", Rg. 216 und „Flexner" (aus der Gruppe II), sowie die 2 Dysenteriesera „Helsingör" (Gruppe I) und „Frederikshavn" (Gruppe II) benutzt.

---

1) Nur 3mal habe ich Gelegenheit gehabt, die Agglutination des Coli P durch Serum von Patienten mit positivem Dysenteriebacillenbefunde zu prüfen.

Serum von Patienten, bei denen folgende Stämme sich vorfanden	Agglutination der Stämme		
	Rg. 150	Rg. 216	Coli P
Rg. 245	1000	<25	<25
B. 236	100	<25	100
65	250 (500)	100	100 (250)

Wie oft nun die Agglutination solcher Sera mit derjenigen des ersteren dieser 3 Fälle, wo eine starke Agglutination durch einen Dysenteriebacillus und keine Agglutination durch den Coli P hervorgerufen wird, übereinstimmen wird, oder ob sie sich im allgemeinen wie die der beiden letzteren Sera verhalten wird (nämlich wie diejenigen der meisten Normalsera) läßt sich erst dann entscheiden, wenn eine längere Reihe von menschlichen Dysenterieseris untersucht worden ist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Absorption des Agglutinins für die Coli-Kulturen gelang sehr gut; in den 4 Fällen war die Absorption vollständig, und in 2 Versuchen No. 3 und 6 wurden jedenfalls beträchtliche Mengen absorbiert. Dessenungeachtet war die Agglutination der Dysenteriebacillen im wesentlichen dieselbe vor der Absättigung wie nachher; nur in den Versuchen 2, 4 und 6 wurde ein geringes Sinken des Agglutinins beobachtet. Da Kuhn, Gildemeister und Woithe keine Versuchstabellen über ihre entsprechenden Untersuchungen publiziert haben, läßt es sich nur sehr schwer entscheiden, inwieweit meine Resultate von den ihrigen abweichen. Wenn es sich wirklich um 2 verschiedene Agglutinine (bzw. Agglutinogene) handeln sollte, darf nicht vergessen werden, daß Dysenteriebacillen gleichwohl von einem Serum, aus dem nur das der Paragglutination entsprechende Agglutinin absorbiert ist, weniger stark agglutiniert werden können. Wie von Park und Collins nachgewiesen worden ist, gibt ein dem spezifischen Agglutinogen einer Bakterie zugefügtes Nebenagglutinogen in der Regel dem homologen Serum einen höheren Agglutinationstiter, als in Fällen, wo die Bakterie dieses Nebenagglutinogen nicht besaß. Wenn man daher aus einem solchen Serum das dem Nebenagglutinogen entsprechende Agglutinin beseitigt, kann es selbstredend vorkommen, daß das Bakterium jetzt nicht so stark wie vorher agglutiniert wird.

No.	Serum		Agglutination vor der Absättigung		Agglutination nach der Absättigung	
1	„Helsingör“	Coli M	1000 (2500) von Coli M	10 000 von „Y“	< 100 von Coli M	10 000 von „Y“
2	„	„ N	500 (1000) von Coli N	25 000 von Rg. 215	< 100 von Coli M	10 000 (25 000) von Rg. 215
3	„	„ O	2500 (5000) von Coli O	100 000 von „Helsingör“	500 (1000) von Coli O	100 000 von „Helsingör“
4	„Frederikshavn“	„ M	1000 von Coli M	5000 von „Flexner“	< 100 von Coli M	2500 von „Flexner“
5	„	„ M	1000 von Coli M	10 000 von „Frederikshavn“	< 100 von Coli M	10 000 von „Frederikshavn“
6	„	„ N	500 (1000) von Coli N	10 000 von Rg. 216	100 von Coli N	5000 von Rg. 216

Der scheinbare Schwund des Dysenterieagglutinins bei den von Kuhn, Gildemeister und Woithe angestellten Versuchen, sowie bei einem Teil meiner Absorptionsversuche spricht also nicht absolut

Tabelle C.

Die Agglutinabilität verschiedener Dysenterie-

Stamm	Datum	Serum „Helsingör“	Serum Coli I	Menschensera 1	2	3	4	5
„Helsingör“	9. 5. 13	10 000	100	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50
453	dgl.	10 000	100	(50)	< 50	(50)	< 50	< 50
Rg. 133	„	10 000	100	100	50 (100)	100	50	(50)
Rg. 150	„	10 000	100 (250)	100	100	100	50 (100)	(50)
Rg. 215	„	5 000	100	100 (250)	100 (250)	100	50 (100)	100
Rg. 245	„	5 000	50	100	100	100	100	(50)
„Y“	„	5 000	100	50	< 50	50	50	< 50
65	„	10 000	50	< 50	50	< 50	50	< 50
„Ohno“	„	10 000	100 (250)	100 (250)	100	100	100	250
82	„	10 000	100	50 (100)	100	< 50	50 (100)	< 50

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gegen die Annahme von 2 verschiedenen Agglutininen; die Versuche (No. 1, 3 u. 5 und zum Teil 2), wo dieser Schwund nicht beobachtet wurde, sprechen meiner Ansicht nach eher im hohen Grade dafür.

Es ist indessen wohl bekannt, daß die Castellanische Absorptionsmethode mit sehr vielen Fehlerquellen arbeitet, und daß sie daher überhaupt, wenn es sich um einen endgültigen Beweis handelt, kaum anwendbar ist. Jedenfalls ist es nicht zu empfehlen, diese Methode bei Untersuchungen von Menschenseris zu benutzen, wenn man zu konstatieren wünscht, inwieweit bei einer gegebenen Dysenteriebacillenagglutination ein spezifisches Dysenteriebacillenagglutinin oder nur ein Paragglutinin mitwirkend ist; die genannte Methode wird hier entschieden häufig ganz falsche Resultate geben.

Die Absorptionsversuche, welche ich mit einigen Dysenteriebacillen agglutinierenden Menschenseris vorgenommen habe, ergeben ebenfalls nichts von Bedeutung; bald findet man eine fast unveränderte Agglutination der Dysenteriebacillen nach der Absättigung, bald ist die Agglutination durch den Einfluß der Coli-Bacillen vollständig aufgehoben. Da die Agglutination mit Menschenseris, wie bekannt, nicht so stark wie bei Kaninchenimmunseris ist, habe ich mit diesen Menschenseris das Agglutinin in der Serumverdünnung $^1/_{10}$ absorbieren müssen, wodurch selbstredend noch weitere Fehlerquellen bedingt sein können.

Können Dysenteriebacillen ihr Paragglutinogen von selbst verlieren?

Falls nun wirklich 2 verschiedene Agglutinogene vorliegen, dann läßt sich die Möglichkeit denken, daß die Dysenteriebacillen, ebenfalls wie die verschiedenen Coli-Bacillen, Kokken usw., welche nach kürzerer oder längerer Zeit ihr Paragglutinogen vollständig verlieren, in bezug auf ihren Agglutinogengehalt großen Schwankungen ausgesetzt sind, wenn auch vielleicht erst nach längerer Zeit oder jedenfalls unter ganz besonderen Verhältnissen. Ein dieses Nebenagglutinogens beraubter

Tabelle C.

bacillen gegenüber verschiedenen Menschenseris.

Datum	Serum „Helsingör"	Serum Coli II	Menschensera					
			6	7	8	9	10	11
21. 5. 13	10 000	1000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50
dgl.	10 000	1000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50
„	5 000	1000	100	< 50	< 50	(50)	(50)	< 50
„	10 000 (25 000)	2500	100	< 50	(50)	(50)	(50)	< 50
„	5 000 (10 000)	1000	250	(50)	(50)	(50)	50 (100)	< 50
„	5 000 (10 000)	1000	250	(50)	(50)	(50)	50 (100)	(50)
„	5 000	1000	(50)	< 50	< 50	< 50	(50)	< 50
„	10 000	2500	(50)	< 50	< 50	< 50	50	< 50
„	25 000	2500 (5000)	100	50 (100)	50	100	100 (250)	50
„	25 000	2500	< 50	< 50	< 50	< 50	50 (100)	< 50

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dysenteriebacillus wäre dann für diagnostische Serumuntersuchungen anwendbar.

Um darüber ins klare zu kommen, inwieweit solche Schwankungen sich vorfanden, habe ich eine Reihe von verschiedenen Dytenteriebacillen — neuere und ältere Laboratoriumkulturen — in bezug auf ihre Agglutinabilität geprüft: 1) gegenüber einem Kaninchenimmunserum, mittels einer dysenterieparagglutinablen Coli-Kultur gewonnen, 2) gegenüber einer Reihe von Menschenseris und 3) gegenüber einem Dysenterieserum. Die Menschensera sind aus einer größeren Reihe von Seris gewählt, und zwar wurde eine Untersuchung mit einzelnen dieser Stämme vorausgeschickt, und zwar wurden nur die diesen Stamm agglutinierenden Sera angewandt.

In der Tabelle C findet sich das Resultat dieser Untersuchung.

Wie aus derselben hervorgeht, sind dieselben Stämme in 13-tägigem Zwischenraum mit 2 Reihen von Menschenseris untersucht. Bei dem ersten Versuche war die Agglutination des angewandten paragglutinablen Coli-Serums nämlich so schwach, daß ich, um die Variationen in einem stärkeren Serum besser sehen zu können, den Versuch wiederholte, nachdem das betreffende Serum hergestellt war.

Einzelne der Stämme („Y" und „Ohno") sind alte Laboratoriumstämme; die übrigen Stämme habe ich selbst gesammelt und seit 3 Monaten bis 2 Jahren aufbewahrt.

Das Ergebnis der Versuche gestaltete sich zum Teil ganz anders als ich erwartet hatte. Wenn tatsächlich von Schwankungen in der Menge des hypothetischen Paragglutinogens der Dysenteriebacillenstämme die Rede sein sollte, müßte dies in verschiedener, eventuell vollständig aufgehobener Agglutination bei den angewandten Coli-Seris, in Verbindung mit ganz entsprechenden Schwankungen bei den untersuchten Menschenseris seinen Ausdruck finden. Das Resultat war indessen: ein großer Unterschied zwischen den Stämmen in bezug auf ihre Agglutinabilität in Menschensera, aber eine ziemlich konstante Agglutination sämtlicher Stämme in den beiden Coli-Seris und in dem Dysenterieserum.

Die Stämme können zwar eine etwas abweichende Agglutinabilität dem homologen Dysenterieserum gegenüber, sowie bei den geprüften Coli-Seris aufweisen, es handelt sich aber hier nur um Kleinigkeiten, und es läßt sich absolut nicht annehmen, daß die kleinen hier konstatierten Schwankungen in derselben Richtung gehen wie die beträchtlichen Variationen bei den Menschenseris. Der Stamm „Helsingör" wurde überhaupt in keinem der 11 Menschensera agglutiniert; 453, „Y" und 65 wurden in einzelnen Seris ganz schwach, 82, Rg. 133, Rg. 150, Rg. 215 und Rg. 245 etwas stärker, die 4 letzteren ziemlich gleich stark agglutiniert; der älteste Stamm „Ohno", welcher von allen geprüften Seris agglutiniert wurde, wies die größte Agglutinabilität auf. (Da es sich um ausgewählte Sera handelt, darf dieser Befund nicht so aufgefaßt werden, daß „Ohno" überhaupt in allen Menschenseris agglutiniert wird, die meisten Sera wurden nämlich eben durch Agglutination des Stammes „Ohno" ausgewählt, welcher von ca. $^1/_3$ der geprüften Sera bis zu $^1/_{50}$ und darüber agglutiniert wurde.)

Daß es sich um dasselbe Agglutinin in den verschiedenen Menschenseris handelt, dürfte daraus hervorgehen, daß dasjenige Serum, welches einen Stamm am besten agglutiniert, auch die anderen Stämme am besten agglutiniert, und umgekehrt; so werden zum Beispiel alle Stämme in den 6 ersten Seris am stärksten, in den 4 nachfolgenden weniger gut und in den letzten Seris am schwächsten agglutiniert.

Inwieweit es sich hierbei eben um die Wirkung des spezifischen Dysenterieagglutinins oder um ein anderes Agglutinin (Paragglutinin) handelt, wird durch den Versuch nicht aufgeklärt.

Falls mit einem Paragglutinin zu rechnen ist, und dasselbe mit dem bei den beiden Coli-Seris vorgefundenen Agglutinin identisch ist, so folgt daraus, daß das entsprechende Paragglutinin bei Dysenteriebacillenstämmen verschiedener Laboratoriumalter wenigstens keinem Schwund oder wesentlichen Schwankungen ausgesetzt gewesen ist.

Mag es sich bei diesen Menschenseris um das eine oder andere Agglutinin gehandelt haben, so läßt sich doch das Resultat des Versuches

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nicht anders erklären, als daß in allen diesen Seris agglutinationshemmende Stoffe enthalten sind, welche den verschiedenen Dysenteriestämmen gegenüber verschiedene Hemmungsstufen durchmachen, und zwar vielleicht von „Null" = „keine Hemmung" (Stamm „Ohno") bis zu einer „totalen Hemmung" (Stamm „Helsingör").

Der Unterschied beruht also auf einer ungleichen Empfänglichkeit der Stämme gegenüber der von sämtlichen Menschenseris ausgeübten Hemmung. Von den beiden Kaninchenseris wird keine Hemmung bewirkt, und zwar vielleicht weil das Agglutinin dieser Sera auf andere Weise entstanden ist, nämlich durch parenterale Einführung des Agglutinogens (intravenöse Injektion von lebender Kultur), während es in den meisten Menschenseris vermeintlich von einer Absorption des Agglutinogens durch einen gesunden Darm bedingt wird.

Um, wenn möglich, durch Erhitzen diese Hemmung aufzuheben, habe ich mit dem Stamm „Helsingör", den ich sowohl vor als auch nach dem Versuch 30 Minuten lang bei 56° erwärmte, mit mehreren Menschenseris Agglutinationsversuche angestellt; auch die Seris wurden einem $^1/_2$-stündigen Erhitzen bei 56° ausgesetzt; um konstatieren zu können, welche Seris agglutininhaltig sind und welche nicht, wurde der Stamm „Ohno" in sämtlichen Seris geprüft.

Agglutination des „Ohno"-Stammes in **nicht** erhitztem Serum.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
100	50	50	50	100	50	< 50	< 50	< 50	< 50
(250)		(100)	(100)						

11	12	13	14	15	16	17
50	100	100	50	50	< 50	< 50
				(100)		

Agglutination des „Helsingör"-Stammes	vor Erhitzen	in Serum	vor Erhitzen					
„ „ „	„	—	—	nach	—			
„ „ „	nach	—	—	vor	—			
„ „ „	„	—	—	nach	—			

alle < 50

30 Minuten langes Erhitzen auf 56° hat also die Hemmung nicht beeinflußt.

Ueber die Hemmung und deren eventueller Einfluß auf die diagnostische Agglutinationsprobe.

Nachdem meine Untersuchungen so weit geführt waren, wurden mir nur noch von Individuen, bei denen keine Dysenteriebacilleninfektion vorlag, Sera zur Untersuchung eingesandt. Ich konnte daher nicht weiter mittels des mit dem Stamm „Helsingör" angestellten Agglutinationsversuches prüfen, ob wohl gegenüber dem in diesen Sera enthaltenen, und durch Absorption des Agglutinogens durch einen kranken Darm erzeugten Agglutinin dieselbe Hemmung konstatiert werden könnte.

Es scheint mir nämlich einigermaßen berechtigt, anzunehmen, daß dies nicht der Fall ist. Erstens ist dieses Agglutinin, wie erwähnt, auf andere Weise und vielleicht auch in kürzerer Zeit entstanden, und zweitens habe ich in der Literatur keinen Aufschluß darüber vorgefunden, daß sonst agglutinable Dysenteriebacillen, wie z. B. der Stamm „Helsingör", gelegentlich durch Serum von Dysenteriekranken nicht agglutiniert werden sollten, wenn dieses Serum überhaupt agglutininhaltig ist. Versuche dieser Art, bei denen die Agglutination mehrerer verschiedener Dysenteriestämme in demselben Menschenserum untersucht worden ist, sind zwar in ziemlich weitem Umfange angestellt.

Schon die ersten Verfasser, welche Dysenteriebacillenbefunde beschrieben haben (Shiga, Kruse, Flexner u. a.), wandten das von den Dysenteriepatienten herrührende Serum zur Identifizierung der Stämme an, und erst später fing man an, künstliches

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tierimmunserum zu benutzen, da sich dies Verfahren aus mehreren Gründen als zweckmäßiger erwies.

Dagegen ist, wie schon früher besprochen, die von diesen Dysenteriebacillen in normalen Menschenseris bedingte Agglutinabilität von den verschiedenen Verfassern als sehr variierend bezeichnet worden, und in den von mir konstatierten hypothetischen Hemmungsstoffen mußte der Ursprung dieser Abweichungen gesucht werden.

Liefmann und Nieter, welche in normalen Menschenseris eine Agglutination bis auf 200 vorgefunden haben, dürften wahrscheinlich einen dem „Ohno"-Stamm ungefähr entsprechenden Stamm verwandt haben; Jürgens und Leiner, welche bei solchen Seris überhaupt keine Agglutination beobachtet haben, werden einen dem „Helsingör"-Stamm entsprechenden Stamm, und Lentz und andere Verfasser, die eine Agglutination bis auf 50—60 in Normalseris gefunden haben, werden einige dem „82" entsprechende Stämme benutzt haben usw.

Nach dem oben angeführten läßt sich vermuten, daß es sich tatsächlich um Dysenteriebacillen ganz verschiedener Typen gehandelt hat. Daß dies aber nicht der Fall ist, wird durch den nachfolgenden Versuch bestätigt, wo derselbe Stamm in 2 oder 3 Kulturen die Menschenseris in verschiedener Weise agglutiniert hat.

Als Nährboden wurde für alle Kulturen Kalbsbouillon benutzt. Die Kulturen wurden gleichzeitig von derselben Originalkultur angelegt. Für die Agglutinationsprobe wurde wie gewöhnlich eine 24-stündige Bouillonkultur benutzt, die von solchen Kulturen angelegt war, welche verschiedenen Bedingungen ausgesetzt gewesen waren, wie dies aus dem nachfolgenden Schema hervorgeht.

Die Menschenseris sind, wie in früheren Versuchen, nach vorausgehender Untersuchung mit einem agglutinierenden Stamm ausgewählt worden.

Untersuchung am 26. März 1913		Serum „Helsingör"	Agglutination in 8 verschiedenen Menschenseris							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Rg. 150 [1])	Von Kultur am 17. Febr. ausgesät und danach in einem hellen Fenster mit häufigem Schütteln aufbewahrt	10 000 (25 000)	100 (250)	100	100	(50)	100 (250)	100	100 (250)	100
Rg. 150 [2])	Von Kultur am 17. Febr. ausgesät und danach in einem dunklen Schrank aufbewahrt	25 000	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50
453 [1])	wie Rg. 150 [1])	10 000	100	(50)	< 50	< 50	< 50	< 50	(50)	50 (100)
453 [2])	wie Rg. 150 [2])	10 000	100	(50)	< 50	< 50	50	< 50	< 50	50 (100)
453 [3])	Von Kultur ursprünglich am 17. Febr. ausgesät und danach 20mal umgesät	10 000	50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50

Wie man sieht, wird ein Dysenteriebacillenstamm nicht allein dazu kommen können, in einer Reihe von Menschenseris stark agglutiniert zu werden, sondern auch in eben denselben Seris überhaupt keine Agglutination aufweisen können; es läßt sich daher nicht sicher behaupten, daß Stämme, welche in den genannten Seris verschieden agglutiniert werden, deshalb verschieden sein müssen.

Inwieweit es möglich ist, diese Agglutinabilität willkürlich in einer voraus bestimmten Richtung zu ändern, dafür gibt dieser Versuch keine

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Anhaltspunkte; es mag sein, daß die Schwankungen spontan oder auch aus bestimmten anderen Ursachen als infolge der zufällig gewählten Versuchsbedingungen eingetreten sind; wenigstens gaben die beiden ersten Kulturen 453, wenn sie denselben Bedingungen wie die Kulturen Rg. 150 ausgesetzt waren, dasselbe Resultat; während dagegen die beiden Kulturen von Rg. 150 unter diesen Verhältnissen sehr verschieden reagierten. Die dritte Kultur 453, welche häufig umgesät wurde, hat dagegen eine etwas schwächere Agglutination als die beiden ersteren erwiesen.

Wenn es sich herausstellen sollte, daß ein in normalen Menschenseris inagglutinabler oder jedenfalls nur schwach agglutinabler Dysenteriestamm in der Dysenteriediagnostik bei Agglutinationsversuchen mit Patientenseris angewandt werden kann, dann wäre es natürlicherweise am bequemsten, wenn eine sichere Methode aufgefunden werden könnte, mittels welcher ein gegebener Dysenteriebacillus in einen derartigen Zustand versetzt würde. Sollte dies nicht gelingen, muß man statt dessen bei unmittelbar vorausgehender Untersuchung in normalen, gewisse Stämme agglutinierenden Menschenseris diejenigen Stämme aussuchen und anwenden, welche durch diese Seris nicht agglutiniert werden.

Es ist mir vorläufig nicht möglich gewesen, auf die näheren Verhältnisse dieser Frage weiter einzugehen, weil ein solches Studium ohne Untersuchung von Seren von Patienten mit sicherer Infektion durch Dysenteriebacillen dieser Gruppen nicht durchführbar ist. Möglicherweise wird eine solche genaue Untersuchung über die in so vielen Beziehungen komplizierten und rätselhaften Agglutinationsbedingungen dieser Bacillen uns noch viele Ueberraschungen bringen können.

Ueber die Agglutination mit Dysenteriebacillen der Gruppe III.

Baerthlein ist, wie schon an anderer Stelle erwähnt wurde, der einzige Autor, welcher früher mit Sicherheit Bacillen dieser Gruppe festgestellt hat; in 3 seiner 6 Fälle hat er die Agglutination der Patientenseris untersucht und einen Agglutinationswert von $^1/_{100}$ gefunden, während er bei 40 Normalseris keine Agglutination in der Verdünnung $^1/_{50}$ erhielt.

Ich habe das Serum von 12 durch diese Bacillen infizierten Patienten untersucht und die folgenden Agglutinationswerte gefunden:

Serum derjenigen Patienten, bei denen folgende Stämme vorgefunden wurden	Alter des Patienten	Agglutination	
		Stamm B. 20	Eigener Stamm
B. 20	1 Jahr	250	250
B. 82	6 Jahre	—	0 (3 : < 50)
F. 85	2 Jahre	10	—
B. 92	< 1 Jahr	25	50
Rg. 105	2 Jahre	50	—
B. 108	< 1 Jahr	50	100
1030	Erwachsener	50	50
Rg. 185	< 1 Jahr	50	—
Rg. 201	< 1 Jahr	25	—
1093	10 Jahre	50	25
1110	Erwachsener	10 (St. 1030)	—
1320	2 Jahre	50	50

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In keinem der Fälle ist das Agglutinationsvermögen besonders stark gewesen; 1mal war es jedoch $^1/_{250}$, am häufigsten aber $^1/_{50}$ und ein paar Mal nur $^1/_{10}$.

Um einen Vergleich anstellen zu können, habe ich Blutsera von verschiedenen Individuen, bei denen die betreffenden Bacillen nicht vorgefunden wurden (im ganzen 245), untersucht. In allen Sera wurden die Agglutinationsversuche mit dem Stamm B. 20 ausgeführt. Wegen Mangel an Serum schwankt die schwächste Serumverdünnung, wie aus dem Nachfolgenden hervorgeht.

84 Sera zur Wassermannschen und Widalschen Reaktion eingeschickt — schwächste Verdünnung $^1/_{50}$ — keine Agglutination.

31 Sera zur Wassermannschen und Widalschen Reaktion eingeschickt — schwächste Verdünnung $^1/_{25}$ — 30 keine Agglutination, 1 schwach $^1/_{25}$.

70 Sera zur Wassermannschen und Widalschen Reaktion eingeschickt — schwächste Verdünnung $^1/_{10}$ — keine Agglutination.

26 Sera von Kindern, die keine Zeichen von Darminfektion aufwiesen — schwächste Verdünnung $^1/_{10}$ — keine Agglutination.

9 Sera von Kindern, die an Cholerine litten ohne Dysenteriebacillenbefund — schwächste Verdünnung $^1/_{50}$ — keine Agglutination.

15 Sera von Kindern, die an Cholerine litten ohne Dysenteriebacillenbefund — schwächste Verdünnung $^1/_{25}$ — keine Agglutination.

2 Sera von Patienten mit Dysenteriebacillenbefund anderer Art — schwächste Verdünnung $^1/_{50}$ — keine Agglutination.

8 Sera von Patienten mit Dysenteriebacillenbefund anderer Art — schwächste Verdünnung $^1/_{25}$ — keine Agglutination.

Nur in einem dieser Fälle, und zwar in einem Serum, bei dem die Wassermannsche Reaktion angestellt werden sollte, habe ich eine schwache Agglutination in der Verdünnung $^1/_{25}$ vorgefunden. In allen übrigen Fällen wurde keine Agglutination nachgewiesen, obgleich die 96 Sera in der Verdünnung $^1/_{10}$ geprüft wurden. Auch nicht in Fällen mit ausgesprochenen Darmsymptomen ohne Dysenteriebacillenbefund (26 Fälle von Kindercholerine), sowie auch nicht in Fällen, wo Dysenteriebacilleninfektion durch die Bacillen der Gruppe I und II konstatiert war (10 Fälle: 4 Erwachsene und 6 Kinder), ist Agglutination in der geprüften Verdünnung beobachtet worden. Von den 26 Kindern, welche keine Zeichen von Darminfektion darboten, waren 14 nicht 1 Jahr und 12 zwischen 1—4 Jahre alt.

Es folgt hieraus, daß bei gesunden Personen eine Agglutination mit den Bakterien dieser Dysenteriebacillengruppe kaum jemals vorkommen wird selbst nicht bei hohen Serumkonzentrationen. Vieles spricht dafür, daß schon Agglutination in der Serumverdünnung $^1/_{10}$ eine durch diese Bacillen bedingte Infektion wahrscheinlich macht und bei Agglutination in stärkeren Verdünnungen muß eine Infektion mit diesen Krankheitskeimen als sicher angesehen werden.

In dem Falle, wo der Agglutinationswert „schwach $^1/_{25}$“ beobachtet wurde, liegt demnach vielleicht eine solche Infektion vor.

Sämtliche oben besprochenen Agglutinationsversuche sind indessen mittels eines einzelnen Stammes, und zwar B. 20, ausgeführt worden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei den Stämmen dieser Gruppen liegt nun die Möglichkeit vor, daß B. 20 eine in Normalseris inagglutinable Form (wie der Stamm „Helsingör" der Gruppe I) gewesen sei, während vielleicht andere Stämme der Gruppe III agglutiniert werden könnten; doch läßt sich diese Vermutung auf nichts stützen, zumal da der Stamm im Lanfe von ca. $^1/_2$ Jahre stets dieselbe Inagglutinabilität in Normalseris gezeigt hat.

Ich habe auch noch 7 andere solche Stämme gleichzeitig in 20 verschiedenen Sera untersucht, und zwar mit dem folgenden Resultat:

Stamm	Agglutination in Serum „Aarhus"	Schwächste Verdünnung	Agglutination in 20 Sera, welche zur Wassermannschen Reaktion eingeschickt wurden
Rg. 13	500 (1000)	1:10	keine Agglutination
721	500	1:10	„ „
Rg. 201	500	1:10	„ „
Frau V.	500	1:25	„ „
Svendborg IV	500	1:25	„ „
1093	500 (1000)	1:25	„ „
1133	500	1:25	„ „

Es wird also kaum zufällig gewesen sein, daß der Stamm B. 20 durch die Normalsera nicht agglutiniert worden ist. Die Bacillen der Gruppe III verhalten sich also, was ihre Agglutination im Serum normaler Menschen anlangt, ganz anders als die Bacillen der Gruppe I und II.

Es darf bei diagnostischer Serumuntersuchung mittels Bacillen dieser Gruppe nicht vergessen werden, daß alte Kulturen sehr oft inagglutinabel sind, was unter anderem durch die ausfließenden Kolonieen auf der Agarplatte und durch das üppige Wachstum am Boden eines Bouillonglases erkennbar wird. Eine solche Kultur soll selbst redend nicht benutzt werden, und die Neigung zur Bildung eines oft klumpigen Bodensatzesdarf vor allem nicht mit Agglutination verwechselt werden.

Literatur siehe Lentz, Dysenterie. (Kolle u. Wassermanns Handb. Bd. 3. 1913.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber den Wert der Mandelbaumschen Typhusnährböden (Rosolsäure-Laktose-Blutagar).

Von Dr. **Pfeilschmidt,**
Hilfsarzt an der städtischen bakteriologischen Untersuchungsanstalt
Dresden-Friedrichstadt.

In No. 6 der München. med. Wochenschr. 1912 berichtet M. Mandelbaum über „eine neue Platte zur Züchtung von Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe aus Faeces", die eine Modifikation seiner früher angegebenen Rosolsäure-Milchzuckeragarplatten darstellt, indem der neue Nährboden außer Rosolsäure (0,3 ccm einer 1-proz. Lösung), Milchzucker (0,3 g) noch 1 ccm defibrinierten sterilen Menschenblutes auf 10 ccm Agar enthält. Das Blut wurde vor allem zwecks Vermeidung der Diffusion der durch Bact. coli aus dem Milchzucker gebildeten Säure in die weitere Umgebung zugesetzt.

Auf Anregung von Herrn Geh.-Rat Schmorl, dem ich hierfür höflichst danke, prüfte ich in einer Anzahl von Fällen, teils an eingesandtem Material, besonders Stuhlproben, teils experimentell mit Sammlungskulturen die Angaben Mandelbaums nach.

Im wesentlichen handelte es sich für uns darum, Anhaltspunkte zu gewinnen, ob die neuen Nährböden sich den im praktischen bakteriologischen Betriebe eingebürgerten Drigalski-Conradi-Endo- und Malachitgrünplatten so überlegen zeigen würden, daß ihre Einführung neben den genannten Nährböden, resp. ihre ausschließliche Verwendung angezeigt erschiene. Es wurde daher das Untersuchungsmaterial, abgesehen von wenigen Fällen (s. Tab.), sowohl auf Mandelbaum-, als auch auf Drigalski-, resp. Endo- und Malachitgrünplatten ausgestrichen.

In der Herstellung der Mandelbaumschen Platten hielt ich mich streng an die l. c. gegebenen Vorschriften. Eine Verunreinigung des Nährbodens mit Luftkeimen scheint hierbei nicht stets vermeidbar, wie die fast regelmäßige Entwickelung von Schimmelpilzen auf 2—3 Wochen alten Platten (Aufbewahrung im Eisschrank) beweist. Eine Sterilisation der fertigen Platten verbietet sich ja; die Herstellung einer größeren Menge von Platten auf Vorrat erscheint daher nicht ratsam. Der zur Bereitung der Mandelbaum-Platten verwendete Agar war auf den Lackmusneutralpunkt neutralisiert.

Evident war die von Mandelbaum selbst betonte gegenüber anderen Typhusnährböden, etwa dem Drigalski-Conradischen, geringere keimtötende resp. entwickelungshemmende Kraft für andere als Typhus- oder Coli-Bakterien, z. B. in einem Falle, wo ich aus einem Galleröhrchen, in welches ein Widal-Blutkuchen gebracht war, gleichzeitig je 1 Oese auf eine Drigalski- und eine Mandelbaum-Platte impfte: Auf beiden Platten waren Staphylokokken gewachsen; auf der Drigalski-Platte jedoch nur recht wenige kleine, auf der Mandelbaum-Platte reichlich große, hämolytische Kolonieen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei den Versuchen, Stuhlproben auf den Mandelbaum-Platten fraktioniert auszustreichen, wie dies bei den übrigen Nährböden üblich ist, erhielt ich aus dem eben erwähnten Grunde stets zu dichte Bewachsung des Nährbodens. Die von Mandelbaum angegebene Technik des strichweisen Ausstriches zur Erzielung isolierter Kolonieen erscheint daher als die zweckmäßigste; nur ist zu bedenken, ob nicht durch das zweimalige Ausglühen der Oese infolge Verminderung des Untersuchungsmaterials auch die Wahrscheinlichkeit des Nachweises der gesuchten Erreger geringer wird.

Der verwendete Malachitgrünagar bestand aus 0,1 Malachitgrün I Höchst (1 : 60) auf 10 g Agar.

Nachfolgend meine Resultate mit Menschenblut-Rosolsäure-Laktoseagar:

Platte 1—7. Beimpfung mit Sammlungskulturen:

1) Typhus. Nach 24 Stunden kleinstecknadelkopfgroße, runde, scharfrandige, durchscheinende, zarte Kolonieen, welche die Farbe des Nährbodens unverändert lassen.

2) Paratyphus B: Im ganzen dasselbe Bild wie bei Platte 1, insbesondere ist die Umgebung der Kolonieen völlig unverändert. Die Paratyphuskolonieen erscheinen etwas derber, jedoch immer noch durchscheinend und größer als die gleichalterigen Typhuskolonieen. Die Unterschiede der Platten 1 und 2 sind so gering, daß sich darauf differentialdiagnostische Merkmale nicht würden gründen lassen. — Hängender Tropfen zeigt in beiden Fällen lebhaft bewegliche, schlanke, gut ausgebildete Stäbchen.

3) Bact. coli commune: Große, derbe, im auffallenden Lichte grau-rötliche, im durchfallenden Lichte schmutzig braun-grünlich erscheinende Kolonieen mit braunem Hof, ohne Aufhellung der Umgebung.

4) Bact. coli haemolyticum: Etwa hanfkorngroße, runde, derbe, im auffallenden Lichte rötlich-grau, im durchfallenden Lichte braungrünlich erscheinende Kolonieen, deren unmittelbare Umgebung eine schmale, hämolytische Zone aufweist; die weitere Umgebung ist wie bei Bact. coli commune deckfarbenbraun verfärbt.

5) und 6) Streptokokken und Staphylokokken: Wachsen in stecknadelkopfgroßen, grauweißen Kolonieen ohne Verfärbung der Umgebung, je nach dem Stamm mit oder ohne Hämolyse. Junge, nicht hämolytische Staphylokokken- oder Streptokokkenkolonieen sind von Typhus- oder Paratyphuskolonieen nicht mit Sicherheit zu unterscheiden. In den Stuhlausstrichen stellten sich häufig die neben den großen, ohne weiteres als solche erkennbaren Coli-Kolonieen vorhandenen, kleinen und als „verdächtig“ isolierten Kolonieen als Staphylokokken oder Streptokokken heraus. Ebenso wie wirkliche Typhus-, Paratyphus- und Dysenteriekolonieen lagen sie oft noch innerhalb der braunen, stets ziemlich breiten Höfe der Coli-Kolonieen.

7) Pyocyaneus: Nach 24 Stunden dichter, graublauer Rasen, dessen Farbe später mehr ins braun-grünliche umschlägt und die Platte entsprechend entfärbt hat, nach einigen Tagen ist die Platte völlig durchsichtig, lackfarben (Hämolyse?).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

8) (16. Juli 1912). In Blutagarplatte, die mittels Leichenblut eines an Nephritis Verstorbenen hergestellt war, zeigen sich in der Tiefe kleine, von einem breiten, hämolytischen Hofe umgebene Kolonieen, die aus gramnegativen, lebhaft beweglichen Stäbchen bestehen; Ausstrich von einer solchen Kolonie auf Mandelbaum-Platte ergibt das gleiche Bild wie Platte 7. Schrägagarkultur: Pyocyaneus.

No.	Materiäl	Ausstrich auf	Resultat	Bemerkungen
9	Stuhl v. Typhusbacillenträger (?) 4. 3. 12	a) Drigalski b) Mandelbaum	a) Coli b) Coli comm. und Coli haemolyt.	Vor ca. 1 Jahr hat der Betr. einen klinisch sicheren Typhus überstanden; Typhusbacillen wurden damals im Stuhl nachgewiesen. Bem. Wo nichts Besonderes bemerkt, waren die hämolytischen Coli-Kolonieen nach 24 St. bemerkbar.
10	Stuhl Ry. 13. 3. 12 No. 2494	a) Drigalski b) Malachit c) Mandelbaum	a) Coli b) Coli c) Coli	Klinisch sicher Typhus. Mandelbaum-Platte ganz gelbbraun, Ausstrich wahrscheinlich zu dicht.
11	Stuhl Ry. 15. 3. 12 No. 2562	a) Drigalski b) Malachit c) Mandelbaum	a) Coli b) Coli c) Coli comm. und Coli haemolyt.	Stuhl von Typhusrekonvaleszenten. Klinisch sicher Typhus.
12	Stuhl H. 27. 3. 12 No. 2914	a) Drigalski b) Malachit c) Mandelbaum	a) Coli b) Coli c) Bact. dysenter. Shiga-Kruse. Coli haemolyt.	Mandelbaum-Platte nach 24 St.: Neben den derben, teilweise von hämolytischen Höfen umgebenen Coli-Kolonieen finden sich massenhafte, die Strichstellen wie ein feiner Schleier bedeckend, stecknadelspitzgroße Kolonieen, welche die Farbe des Nährbodens unverändert lassen. Diese als verdächtig isoliert: Bouillon: unbewegliche, plumpe, gramnegative Stäbchen, Milch unverändert, Zuckerbouillon keine Gasbildung, Lackmusmolke blau, leicht getrübt, Neutralrotagar unverändert, Barsiekowsche Nährböden blau, getrübt; Lackmuslaktoseagar: blaue, leicht trübe Kolonieen. Indolbildung negativ. — Austitrierung mittels spezifischer Seren: Shiga-Kruse (Titer 600): bis 600 —; Flexner (Titer 5000): bis 50 +; Y (Titer 3000): 50 —.
13	Stuhl Hi. 28. 3. 12 No. 3017	a) Drigalski b) Mandelbaum	a) Coli b) Coli comm.	Kein Coli haemolytic.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No.	Material	Ausstrich auf	Resultat	Bemerkungen
14	Stuhl U. 29. 5. 12 No. 4836	a) Drigalski b) Malachit c) Mandelbaum	a) Coli b) Coli c) Coli comm.	Klinisch Typhus abdom. Kein Coli haemolytic.
15	Stuhl Ha. 24. 5. 12 No. 4835	a) Drigalski b) Malachit c) Mandelbaum	a) Paraty. B b) Coli c) Coli comm.	Nährbodenreihe: Paraty. B Titrierung mit spez. Seren: Paraty. B bis 800 + (Titer 5000); Gärtner —. Kein Coli haemolytic. Die klinischen Erscheinungen sprechen für Typhus abdom.
16	Darminhalt von Leiche eines an Brechdurchfall Gestorbenen	a) Malachit b) Mandelbaum	a) Paraty. B b) Paraty. B	Nährbodenreihe: Paratyphus; Agglutination mit Paraty. B-Serum bis 500 +. Kein Coli haemolytic. Widal war in vivo auf Paraty. B positiv!
17	Stuhl W. 4. 8. 12 No. 7007	a) Drigalski b) Mandelbaum	a) Coli b) Coli comm.	Kein Coli haemolytic.
18	Stuhl Fl. 30. 8. 12	a) Drigalski b) Malachit c) Mandelbaum	a) Coli b) — c) Coli comm.	Kein Coli haemolytic.
19	Stuhl Sch. 30. 9. 12 No. 9223	a) Endo b) Malachit c) Mandelbaum	a) Coli und Streptokokk. b) Typh. (?) c) Coli comm., Streptokokk. u. Coli haemolytic.	ad b) Nährbodenreihe: Typh.; Agglutination mit Typhusserum nur bis 100 +, Paraty- etc. —. ad c) Die hämolyt. Coli-Kolonieen traten erst nach 2mal 24 St. deutlich zutage. Klin. Erscheinungen: Brechdurchfall, Typhusverdacht. Widal andauernd negativ.
20	Pat. S. A. Stuhl 1. 10. 12 No. 9388 B. Urin dess.	a) Drigalski b) Malachit c) Mandelbaum, Endo	a) Coli und Streptokokk. b) Coli c) Coli comm. Bac. faecal. alcaligen.	ad c) Nach 24 St. weist keine Coli-Kolonie hämolyt. Hof auf, nach mehrtägigem Aufheben jedoch ist ein großer Teil der Coli-Kolonieen von glashellen, hämolyt. Zonen umgeben. Coli haemolyticus?
21	Stuhl L. 3. 10. 12 No. 9445	a) Endo b) Mandelbaum	a) Coli b) Coli comm. kein Coli haemolyt.	Klinisch sicher Typhus. Widal: Typhus 100 +.
22	Stuhl S. 4. 10. 12 No. 9598	a) Endo b) Mandelbaum	a) Coli b) Coli comm. und Streptokokken, kein Coli haemolytic.	
23	Stuhl Sch. 5. 10. 12 No. 9619	a) Endo b) Malachit c) Mandelbaum	a) Coli b) Coli c) Coli comm., kein Coli haemolytic.	Klinisch sicher Typhus.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No.	Material	Ausstrich auf	Resultat	Bemerkungen
24	Stuhl H. 9. 10. 12 No. 9897	a) Drigalski b) Malachit c) Mandelbaum	a) Typhus b) Coli c) Coli comm., Coli haemolytic.	ad a) Nährbodenreihe: Typh.; Agglutination: Typh. bis 3200 +. ad c) Auch hier erst Paraty. B bis 800 +. Nach mehrtäg. Aufheben der Platte (nicht jedoch schon nach 24 St.) zeigt der größte Teil der Coli-Kolonieen hämolyt. Höfe. Klinisch sicher Typhus.
25	Stuhl Sch. 9. 10. 12 No. 9912	a) Drigalski b) Mandelbaum	a) Coli b) Coli comm., kein Coli haemolytic.	Klinisch Typhus.
26	Stuhl Ha. 10. 10. 12 No. 9956	a) Drigalski b) Malachit c) Mandelbaum	a) Coli b) Coli c) Coli comm., kein Coli haemolytic.	Klinisch Typhus abdominalis.
27	Stuhl B. 11. 10. 12 No. 10070	a) Drigalski b) Malachit c) Mandelbaum	a) Coli b) Typhus c) Coli comm.	ad b) Nährbodenreihe: Typh.; Agglutination Typh. bis 800 +, Paraty. B bis 100 +. ad c) Kein Coli haemolyt., auch nach mehrtägig. Aufheben der Platte nicht. Klinisch Typhus abdominalis sicher.

Zur Prüfung der Verwendbarkeit von Tierblut, über die nach Mandelbaum noch keine Erfahrungen vorliegen, stellte ich Platten mit sterilem, defibriniertem Kaninchenblut her. Herstellung der Nährböden, Technik des Ausstriches etc. waren die gleichen wie bei den Menschenblutplatten. Auch die Resultate der Beimpfung mit Sammlungskulturen von Typhus, Paratyphus, Coli etc. deckten sich im wesentlichen völlig mit den bei den Menschenblutplatten erhaltenen, so daß sich eine detaillierte Beschreibung erübrigt.

Bei Beimpfung mit Stuhlproben etc. hatte ich folgende Ergebnisse:

No.	Material	Ausstrich auf	Resultat	Bemerkungen
28	Stuhl R. 4. 11. 12 No. 11041	a) Drigalski b) Malachit c) Mandelbaum	a) Coli b) Bac. enter. Gärtner c) Coli comm. u. Coli haemolytic.	ad b) Von der Malachitplattenabschwemmung sind auf Drigalski-Platte kleine, leicht trübe, die Farbe des Nährbodens unverändert lassende Kolonieen gewachsen. Von dieser Nährbodenreihe: Bouillon diffus getrübt; lebhaft bewegliche Stäbchen; Barsiekow-Traubenzucker hellrot ausgefällt, Barsiekow-Milchzucker unverändert; Lackmusmolke trüb, leicht gerötet; Neutralrotagar geringe Fluoresz.; Traubenzuckeragar geringe Gasbildung; Milch unverändert, Gelatine nicht verflüssigt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No.	Material	Ausstrich auf	Resultat	Bemerkungen
				Agglutination: Typhus bis 3200 +, Paraty. B bis 800 +, Gärtner bis 3200 +. Die klinischen Erscheinungen sprechen recht für Typhus abdominalis.
29	Stuhl P. 4. 11. 12 No. 11043	a) Drigalski b) Malachit c) Mandelbaum	a) Coli b) — c) Coli comm. und Streptokokken	c) Kein Coli haemolytic. klinisch Typhus.
30	Stuhl K. 4. 11. 12 No. 11042	a) Drigalski b) Malachit c) Mandelbaum	a) Coli b) Typh. (?) c) Coli comm., Streptokokk. u. Coli haemolytic.	ad b) Nährbodenreihe: Bouillon diffus getrübt, lebhaft bewegliche Stäbchen. Barsiekow-Traubenzucker gerötet, trübe, koaguliert; Barsiekow-Milchzucker zart blau. Lackmusmolke hellrot, leicht trüb. Neutralrotagar unverändert. Traubenzuckeragar kein Gas. Milch nicht geronnen. Gelatine nicht verflüssigt. Agglutination: Typhus- und Paraty. B-Serum: $^1/_{50}$ +, $^1/_{100}$ +, $^1/_{200}$ —. Die übrigen Sera $^1/_{50}$ —. Klinisch Typhus sicher.
31	Stuhl B. 5. 11. 12 No. 11117	a) Drigalski b) Malachit c) Mandelbaum	a) Coli b) Bac. enter. Shiga-Kruse od. Flexner (?) c) Coli comm., Streptokokk. u. Coli haemolytic.	ad b) Nährbodenreihe: Bouillon diffus getrübt; unbewegliche, plumpe Stäbchen, nach 5 Tagen kein Indol; Milch unverändert. Neutralrotagar unverändert; Barsiekow-Milckzucker hellblau, zart; Barsiekowski-Traubenzucker rot, trüb, koaguliert. Lackmusmolke hellrot, klar. Traubenzuckeragar unverändert, kein Gas. Gelatine nicht verflüssigt. Agglutination: Shiga-Kruse bis 400 +, Flexner (Titer 5000) bis 400 +, Y —. Klinisch Typhus abdomin.
32	Stuhl Be. 16. 11. 12 No. 11583	a) Drigalski b) Malachit c) Mandelbaum	a) Coli b) 0 c) Streptokokk. und Coli comm.	Kein Coli haemolytic. Klinisch sicher Typh. abdom.; Widal in der 4. Krankheitswoche bis 1 : 1600 +.
33	Stuhl Fl. 16. 11. 12 No. 11585	a) Drigalski b) Malachit c) Mandelbaum	a) Coli, Strepto- und Staphylokokken b) Streptokokk. c) Coli comm.	ad c) Ausstrich zu dicht geraten. Kein Coli haemolytic. nachweisbar. Klinisch Typus abdomin.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No.	Material	Ausstrich auf	Resultat	Bemerkungen
34	Stuhl Kl. 30. 11. 12 No. 12148	a) Drigalski b) Malachit c) Mandelbaum	a) Coli b) 0 c) Coli comm. und Streptokokken	Kein Coli haemolytic. Klinisch Gastroenter. acuta; kein Typhus.
35	Stuhl M. 15. 12. 12 No. 12806	a) Drigalski b) Malachit c) Mandelbaum	a) Coli b) Paraty. B c) Paraty. B, kein Coli haemolyt.	ad a) u. b) Die von der Malachit- u. Mandelbaum-Platte isolierten verdächtigen Kolonieen (lebhaft bewegliche, gramnegative Stäbchen) zeigen kulturell und serologisch das gleiche Verhalten: Nährbodenreihe bei beiden: Paraty. B. Agglutination: Typh. 50 +, 100 ±, 200 —; Paraty. B 400 +, 800 ±, 1600 —. Klin. Erscheinungen sprechen mehr für Typhus abdom. Widal jedoch 2mal für Typhus und Paraty. gleich hoch bis $^1/_{400}$ +.

Die Resultate mit Sammlungskulturen und Stuhlproben berechtigen wohl dazu, die Kaninchenblutplatten den Menschenblutplatten als gleichwertig zu bezeichnen. In folgender Tabelle sind die Resultate der Stuhluntersuchungen übersichtlich zusammengestellt, wobei die Ergebnisse mit Kaninchen- und Menschenblutplatten zusammengefaßt sind und das Vorhandensein eines pathogenen Keimes aus der Typhus- oder Dysenteriegruppe bezeichnet (die beiden fraglichen Fälle 30 und 31 wurden als positiv mitgerechnet):

No.	Drigalski oder Endo	Malachit	Mandelbaum	Coli haemol. auf Mandelbaum
9	—	—	—	—
2	—	—	—	+
1	—	—	+	+
1	+	—	—	—
1	+	—	—	+
4	—	+	—	+
1	—	+	—	—
1	—	+	+	—
Sa. 20				

No.	Drigalski oder Endo	Malachit	Mandelbaum	Coli haemol. auf Mandelbaum
1	—	nicht angelegt	—	+
5	—	" "	—	—
1	nicht angelegt	+	+	—
Sa. 7				

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aus den mitgeteilten Befunden scheint mir folgendes hervorzugehen:

1) Die von Mandelbaum angegebene Konstanz des Befundes von Bact. coli haemolyticum in jedem Falle von Typhus- resp. Paratyphuserkrankung konnte nicht bestätigt werden; in einer Anzahl klinisch sicherer Typhen, bei denen im Stuhl sich spezifische Erreger nicht nachweisen ließen, wurde auch Bact. coli haemolyticum vermißt, andererseits fehlte dasselbe in mehreren Fällen von positivem Stuhlbefunde.

2) Nach der Häufigkeit der positiven Befunde leisten die Mandelbaum-Platten etwa das gleiche wie die Drigalski-Conradischen und Endo-Nährböden. Das Malachitverfahren war in 3 Fällen negativ, in denen Drigalski- (Endo-) resp. Mandelbaum-Platten positive Ergebnisse zeitigten, dagegen wies es in 5 Fällen positiven Befund auf, während auf den anderen Nährböden keine spezifischen Erreger angetroffen wurden. — Gemäß der von B. Fischer (Kurzgefaßte Anleitung zu den wichtigeren hygienischen Untersuchungen, Berlin 1912) aufgestellten Einteilung der Typhusnährböden wären also die Mandelbaumschen Nährböden in die Gruppe der Nährböden einzureihen, „auf denen Typhus- und Colibakterien etwa gleich gut wachsen, sich aber durch die Farbe der Kolonieen leicht unterscheiden", diese Gruppe ist „geeignet zur Untersuchung von Material, in dem Colibakterien, wenn überhaupt, so doch in geringer Zahl vorkommen (Blut, Galle, posttyphöser Eiter etc.)". — Das Malachitverfahren scheint für die Stuhluntersuchung nach wie vor das zuverlässigste zu sein.

3) Mit Tier- (speziell Kaninchen-)Blut hergestellte Mandelbaum-Platten leisten das gleiche wie mit Menschenblut hergestellte.

Literatur.

1) Mandelbaum, M., Veränderungen zweier Nährböden — Rosolsäure- und Blutagar — durch Säure resp. Alkali bildende Bakterien. (München. med. Wochenschr. 1909. p. 2475.)
2) Stahr, H., Ueber den Wert der Mandelbaumschen Nährböden für die Typhusdiagnose. (Hyg. Rundsch. 1910. p. 113.)
3) Mandelbaum, M., Eine neue Platte zur Züchtung von Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe aus Faeces. (München. med. Wochenschr. 1912. p. 306.)

Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Inhalt.

Bail, Oskar, Veränderungen von Bakterien im Tierkörper. — XI. Untersuchungen über kapsellosen Milzbrand, p. 38.

Delta, Constantin, Sur la réaction de Wassermann dans le typhus exanthématique, p. 50.

Herzfeld, E. u. **Klinger, R.,** Quantitative Untersuchungen über den Indol- und Tryptophanumsatz der Bakterien, p. 1.

Olsson, P. G., Zur Variation des Choleravirus, p. 23.

Pfeilschmidt, Ueber den Wert der Mandelbaumschen Typhusnährböden (Rosolsäure-Laktose-Blutagar), p. 88.

Porcelli-Titone, Ferdinando, Ueber die Beweglichkeit der den ultravioletten Strahlen ausgesetzten Bakterien, p. 54.

Smyth, Henry Field, The influence of bacteria upon the development of ti[illegible] in vitro, p. 12.

Sonne, Carl, Die diagnostische Bede[illegible] der Agglutination der giftarmen Dys[illegible] enteriebacillen (Paradysenteriebacillen) in Patientenseris, p. 65.

Tizzoni, Guido, Die Pellagra in Bessarabien, p. 48.

Tizzoni, G. u. **De Angelis, G.,** Bedeutung des Pleomorphismus bei der Identifikation und Klassifikation des Streptobacillus pellagrae (T.), p. 47.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 76. Heft 2/3.
Ausgegeben am 20. Mai 1915.

Nachdruck verboten.

Choleruntersuchungen.

[Aus dem Kgl. Hygienischen Institut in Beuthen, Oberschl.; Direktor: Prof. Dr. v. Lingelsheim.]

Von Dr. **Jacobitz.**

In der Zeit vom 5. November 1914 bis 31. Januar 1915 wurden im Königl. Hygienischen Institut Beuthen, Oberschl., insgesamt 395 Untersuchungen auf Cholera ausgeführt. Diese betrafen 256 einzelne Personen, und zwar 184 Kranke und Krankheitsverdächtige und 72 Ansteckungsverdächtige. — Zur Untersuchung kamen 320 Stuhlproben, 44 Blutproben von Lebenden, 28mal Material von Leichen (Darmstücke, Milz, Blut), 2mal Erbrochenes und einmal Ohrspeicheldrüseneiter eines Cholerakranken. — Von den Untersuchungen waren im ganzen 60 positiv, und zwar konnten in 32 Stuhlproben, 15mal aus Darmschlingen und 2mal aus Leichenblut Choleravibrionen gezüchtet werden. Außerdem fielen 11 Agglutinationsproben mit dem Serum Cholerainfizierter positiv aus. Die Untersuchung des Erbrochenen war beidemal negativ, und es gelang auch nicht, in dem Ohrspeicheldrüseneiter eines Erkrankten, in der Milz einer Verstorbenen und in dem Blut lebender Erkrankter und Krankheitsverdächtiger Choleravibrionen nachzuweisen.

I. Untersuchung von Stuhl, Erbrochenem und Darmteilen.

Der Gang der Untersuchung entsprach bei den ersten Fällen, die anscheinend nicht im Zusammenhang standen, den in der „Anweisung zur Bekämpfung der Cholera“ gegebenen Vorschriften, nur wurde auch hier schon neben der Agarplatte als fester Nährboden ein Alkaliblutagar, und zwar die Pilonsche Modifikation[1]) des Dieudonnéschen[2]) Blutnährbodens, die sich uns schon bei früheren Untersuchungen bewährt hatte, und in einer Anzahl von Fällen der von Kabeshima[3]) angegebene Hämoglobinagar mit gutem Erfolge verwendet. Als sich dann weiterhin die Untersuchungen rasch häuften, wurde ein vereinfachtes, aber nach den gemachten Erfahrungen ein sicheres Ergebnis gewährleistendes Untersuchungsverfahren angewendet, Im einzelnen war es folgendes: Von dem eingesandten choleraverdächtigen Untersuchungsmaterial wurde ein Peptonwasserkölbchen mit 0,5—1,0 ccm beimpft, gleichzeitig eine Oese auf 2—3 Cholera-Agarplatten (Petri-Schalen) ausgestrichen und eine große Blutalkali-Agarplatte angelegt. Zum Ausstreichen wurde der Drigalskische Glasspatel benutzt. Von dem Originalmaterial wurde außerdem jedesmal ein mit verdünnter Ziehlscher Lösung 1 : 10 gefärbtes Ausstrichpräparat und ein hängender Tropfen mikroskopisch untersucht. Nach 6, 12, 18 und gegebenenfalls auch 24 Stunden bei 37° C wurde das

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 60. 1911. p. 330.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. p. 10[illegible]
3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70. 1913. p. 202.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Peptonkölbchen untersucht. Meist war schon nach 6 Stunden bei 37° C lebhafte Beweglichkeit in dem Kölbchen festzustellen; nach 12 Stunden fand sich diese bei den später als Cholera festgestellten Fällen fast ausnahmslos, nur einmal fehlten noch lebhaft bewegliche Stäbchen nach 12 und 18 Stunden bei 37° C, während auf den von dem Originalmaterial angelegten Platten bereits Choleravibrionen festzustellen waren. In jedem Falle wurden aus dem Peptonkölbchen nach 6 bzw. 12 Stunden bei 37° C zur weiteren Feststellung etwaiger Vibrionen Agarplatten und eine Blutagarplatte angelegt. Die Untersuchung aller Agar- und Blutagarplatten fand zum ersten Male nach 12—18-stündiger Aufbewahrung im Brutschrank statt. Nicht selten war schon nach dieser Zeit auf den Blutagarplatten, die vom Original angelegt waren, deutliches und so reichliches Wachstum von Cholerakolonieen festzustellen, daß die den Abschluß der Untersuchung bildende Agglutination mit einem hochwertigen Choleraserum unmittelbar angeschlossen werden konnte. Da so eine nochmalige Uebertragung auf eine neue Platte oder Agarschrägröhrchen nicht nötig war, erfuhr die endgültige Diagnosenstellung eine sehr wesentliche Beschleunigung. Der Pfeiffersche Versuch wurde nur in den ersten zur Untersuchung kommenden Fällen angestellt, bei den späteren aber fortgelassen, da der Zusammenhang dieser als sicher angenommen werden konnte, und da der positive Ausfall der Agglutinationsprobe mit dem geprüften Vibrio und einem hochwertigen Choleraserum als beweisend für die Diagnose Cholera anzusehen ist. Bei einer Anzahl weiterer Untersuchungen, wenn in dem eingesandten Material die Cholerakeime nur spärlich vorhanden waren, gaben die auf den Blutagarplatten angelegten Originalausstriche nach 12—18 Stunden noch kein sicheres Ergebnis. Die typischen Kolonieen waren nur sehr spärlich; es mußte das Wachstum auf diesen Platten nach 24 Stunden bei 37° C oder auch das der aus dem Peptonkölbchen angelegten Platten abgewartet werden. Oft war aber dann bei den letzteren nach 12 Stunden bei 37° C, im ganzen also 18 Stunden nach der Beimpfung des Peptonkölbchens, ein positives Ergebnis zu erreichen. Nur in vereinzelten Fällen waren erst 24 Stunden nach der Aussaat aus dem Peptonkölbchen auf der Blutalkaliagarplatte typisch gewachsene Cholerakolonieen vorhanden. War die Anzahl der im Peptonkölbchen nach 24-stündigem Aufenthalt im Brutschrank nachzuweisenden, lebhaft beweglichen Stäbchen bzw. Vibrionen noch sehr spärlich, und ließen die nach den verschiedenen Zeiten angelegten Agar- und Blutalkaliagarplatten im Stich, so wurde mit gutem Erfolg aus dem ersten Peptonkölbchen ein zweites beimpft und von diesem dann Plattenserien angelegt. Zusammenfassend, war also das Untersuchungsverfahren zur Feststellung von Choleravibrionen aus Stuhlproben, Darmschlingen und Erbrochenem folgendes:

I. Vom Originalmaterial werden angelegt:
- a) ein Peptonkölbchen (Untersuchung nach 6, 12, 18, 24 Stunden).
- b) 2—3 Cholera-Agarplatten } Untersuchung nach 12, 18, 24 Stunden.
- c) eine Blutalkali-Agarplatte }

II. Aus dem Peptonkölbchen nach 6 bzw. 12 Stunden werden angelegt:
- a) 2—3 Choleraagarplatten } Untersuchung wie bei I.
- b) eine Blutalkaliagarplatte }
- c) gegebenenfalls ein zweites Peptonkölbchen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:39 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

III. Agglutinationsprobe mit hochwertigem Choleraserum.

Bemerkt sei, daß bei der Mehrzahl der Untersuchungen, auch dann, wenn es der Einsender nicht ausdrücklich wünschte, gleichzeitig auf das etwaige Vorhandensein von Typhus- und Ruhrbacillen untersucht wurde und deshalb von dem Originalmaterial noch je eine Platte mit Lackmuslaktose-Agar und eine mit Loefflerschem Grünagar angelegt wurden. In mehreren Fällen wurde so die Erkrankung als Ruhr bzw. als Typhus festgestellt. Ferner sei erwähnt, daß bei der Untersuchung von Darmschlingen außer von dem Inhalt nach Ausspülen der Darmschlinge mit steriler Kochsalzlösung auch etwas von dem an der Darmwand haftenden Schleim und der Substanz dieser selbst abgekratzt und auf die verschiedenen Nährböden gebracht wurde. Auf den hiermit beimpften festen Nährböden fanden sich Choleravibrionen meist ohne nennenswerte Vermischung mit Kolonieen anderer Bakterien (Bacterium coli, Kokken), auch war die Zahl der Cholerakolonieen in der Regel eine reichere, als auf den von dem Darminhalt angelegten Platten.

Was den Wert der einzelnen Nährböden für Choleradiagnose betrifft, so ist der des Peptonwassers als Anreicherungsmedium für Vibrionen so erprobt und bewiesen, daß dasselbe auch heute noch seine volle Bedeutung hat und bisher als erstes zur Aufnahme des choleraverdächtigen Materials bestimmtes Nährsubstrat durch kein besseres ersetzt werden konnte. Freilich ist das Peptonwasser nicht streng spezifisch für Choleravibrionen, auch choleraähnliche Vibrionen gelangen in ihm zu guter Entwickelung. und so haben wir in drei Fällen choleraähnliche Vibrionen nachweisen können, in denen Cholerabacillen nicht gefunden wurden.

Der Pilonsche Blutagar hat sich bei den hiesigen Untersuchungen durchaus bewährt. Allerdings ist seine richtige Herstellung nicht ganz so einfach, wie es nach der Veröffentlichung Pilons[1]) und seiner Nachprüfer den Anschein hat. So versagte der Nährboden einmal, trotzdem er nach Vorschrift hergestellt war. Daraufhin angestellte Versuche und weitere Prüfungen, die sich außerdem noch auf den Dieudonnéschen Originalnährboden[2]), den von Bram-Leipzig hergestellten „Blutalkaliagar für Cholera nach Dieudonné“ (Trockennährboden) und auf den Eschschen Hämoglobinagar[3]) erstreckten, lehrten, Fehler bei der Herstellung des Pilonschen Nährbodens zu vermeiden. Der Pilonagar besitzt eine große Elektivität für die Choleravibrionen und steht darin dem Dieudonnéschen Blutagar nicht nach; Coli-, Typhus-, Paratyphus-, Ruhrbacillen werden, ebenso wie auf dem Dieudonnéschen Agar, in ihrem Wachstum fast ganz zurückgehalten. Störend bemerkbar machten sich auf den Platten immer wieder einige Kokken, vornehmlich ein Doppelcoccus, der auch in seinem Wachstum eine gewisse Aehnlichkeit mit den Choleravibrionen zeigte. Auch gedeiht der Bac. subtilis sowohl auf dem Dieudonnéschen Blutagar als auch auf dem Pilonschen Agar gut, und bildet auf beiden Kolonieen, die auf den ersten Blick den Cholerakolonieen ähnlich sind. Der an Stelle des Pilonschen Nährbodens verwendete Kabeshimasche Blutagar[4]), zu dessen Herstellung der Pfeuffersche Hämoglobinextrakt

1) S. oben.
2) S. oben.
3) Deutsche med. Wochenschr. 1910.
4) S. oben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.
Positive Stuhluntersuchungen.

Lfde. No.	Tage-buch-No.	Tag der Erkrankung	Tag der Stuhlentnahme	Tag der Einlieferung der Probe beim Institut	Beschaffenheit der Stuhlprobe	Ausfall der Agglutinationsprobe (Titer des Serums 20000)	
1	5351	28. X. 14	5. XI. 14	5. XI. 14	dünnbreiig, gelbbraun, Faecesgeruch	1:20000 +	
2	5666	12. XI. 14	13. XI. 14	13. XI. 14	reiswasserartig	1:20000 +	Nachuntersuchungen: 1) 2. XII. 14: positiv (vgl. No. 20) 2) 15. XII. 14: negativ 3) 30. XII. 14: „ 4) 2. I. 15: „
3	5737	12. XI. 14	14. XI. 14	14. XI. 14	dünnflüssig, bräunlich, schleimig, schwacher Faecesgeruch	1:20000 +	
4	5776	12. XI. 14	14. XI. 14	16. XI. 14	dünnflüssig, weißlich-grau, schleimig	1:20000 +	
5	5777	etwa 5. XI. 14	15. XI. 14	16. XI. 14	dünnflüssig, grünlich-gelblich, schleimig	1:20000 +	
6	5814	11. XI. 14	15. XI. 14	16. XI. 14	dünnflüssig, bräunlich, Faecesgeruch	1:20000 +	Nachuntersuchungen: 1) 2. XII. 14: negativ 2) 5. XII. 14: „ 3) 7. XII. 14: „
7	5835	15. XI. 14	15. XI. 14	17. XI. 14	wässerig, schwärzlich-bräunlich	1:20000 +	
8	5903	16. XI. 14	17. XI. 14	18. XI. 14	dünnflüssig, bräunlich, Faecesgeruch	1:20000 +	
9	6008	18. XI. 14	18. XI. 14	20. XI. 14	dünnflüssig, grau-grünlich, schleimig	1:20000 +	
10	6130	20. XI. 14	21. XI. 14	22. XI. 14	wässerig, bräunlich	1:20000 +	Gestorben (vgl. Tab. II No. 8)
11	6134	11. XI. 14	21. XI. 14	22. XI. 14	dickbreiig, braun	1:20000 +	Nachuntersuchungen: 1) 2. XII. 14: positiv (vgl. No. 19) 2) 5. XII. 14: negativ 3) 7. XII. 14: „ 4) 9. XII. 14: „

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

12	6206	16. XI. 14	21. XI. 14	23. XI. 14	dünnflüssig, gelblich-grünlich	1 : 20 000 +	
13	6567	7. XI. 14	26. XI. 14	26. XI. 14	reiswasserähnlich, leicht grünlich	1 : 20 000 +	Außer Choleravibrionen wurden Typhusbacillen gefunden
14	6733	26. XI. 14	27. XI. 14	28. XI. 14	reiswasserähnlich	1 : 20 000 +	Nachuntersuchungen: 1) 13. XII. 14: negativ 2) 16. XII. 14: „ 3) 17. XII. 14: „ 4) 19. XII. 14: „ 5) 29. XII. 14: „
15	6751	22. XI. 14	28. XI. 14	28. XI. 14	dünnflüssig, grünlich-gelblich	1 : 20 000 +	Nachuntersuchungen: 1) 3. XII. 14: negativ 2) 11. XII. 14: „
16	6849	—	28. XI. 14	29. XI. 14	dünnbreiig, bräunlich	1 : 20 000 +	Bacillenträgerin. Nachuntersuchungen: 1) 2. XII. 14: positiv (vgl. No. 21) 2) 13. XII. 14: negativ 3) 16. XII. 14: „ 4) 19. XII. 14: „
17	6851	26. XI. 14	28. XI. 14	29. XI. 14	wässerig, hellbräunlich	1 : 20 000 +	
18	6852	26. XI. 14	28. XI. 14	29. XI. 14	wässerig, bräunlich	1 : 20 000 +	
19	7053	13. XI. 14	1. XII. 14	2. XII. 14	dünnbreiig, hellbraun	1 : 20 000 +	Nachuntersuchung von No. 11
20	7057	12. XI. 14	30. XI. 14	2. XII. 14	dünnbreiig, gelbbraun	1 : 20 000 +	Nachuntersuchung von No. 2
21	7127	—	2. XII. 14	2. XII. 14	dickbreiig, dunkelbraun	1 : 20 000 +	Nachuntersuchung von No. 16
22	7384	5. XII. 14	6. XII. 14	7. XII. 14	reiswasserähnlich	1 : 20 000 +	
23	8490	?	22. XII. 14	25. XII. 14	reiswasserähnlich	1 : 20 000 +	
24	8545	24. XII. 14	26. XII. 14	28. XII. 14	dünnflüssig, braun, Faecesgeruch	1 : 20 000 +	
25	8546	24. XII. 14	26. XII. 14	28. XII. 14	reiswasserähnlich	1 : 20 000 +	
26	8548	?	25. XII. 14	28. XII. 14	wässerig, schwärzlich-bräunlich	1 : 20 000 +	
27	8552	?	26. XII. 14	28. XII. 14	reiswasserähnlich	1 : 20 000 +	Gestorben (vgl. Tab. II No. 15)
28	8635	26. XII. 14	28. XII. 14	29. XII. 14	wässerig, bräunlich	1 : 10 000 +	
29	9038	?	27. od. 28. XII. 14	5. I. 15	reiswasserähnlich	1 : 20 000 +	
30	9111	2. I. 15	5. I. 15	5. I. 15	reiswasserähnlich	1 : 20 000 +	
31	9342	?	3. I. 15	9. I. 15	wässerig, graubräunlich	1 : 20 000 +	
32	9405	?	9. I. 15	11. I. 15	dünnflüssig, bräunlich	1 : 20 000 +	

Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Tabelle II.
Positive Darmuntersuchungen.

Laufende No.	Tagebuch No.	Tag der Erkrankung	Tag des Todes	Tag der Leichenöffnung	Tag des Einganges des Materials beim Institut	Ausfall der Agglutinationsprobe (Serumtiter 20 000)	
1	5497	?	8. XI. 14	8. XI. 14	9. XI. 14	1 : 20 000 +	
2	5601	?	11. XI. 14	11. XI. 14	11. XI. 14	1 : 20 000 +	
3	5667	12. XI. 14	13. XI. 14	13. XI. 14	13. XI. 14	1 : 20 000 +	
4	5669	?	13. XI. 14	13. XI. 14	13. XI. 14	1 : 20 000 +	
5	5738	11. XI. 14	13. XI. 14	13. XI. 14	14. XI. 14	1 : 20 000 +	
6	5775	12. XI. 14	13. XI. 14	15. XI. 14	15. XI. 14	1 : 20 000 +	
7	5815	10. XI. 14	15. XI. 14	15. XI. 14	16. XI. 14	1 : 20 000 +	Aus dem Leichenblut Choleravibrionen gezüchtet
8	6201	20. XI. 14	22. XI. 14	22. XI. 14	23. XI. 14	1 : 10 000 +	Vgl. Tab. I No. 10
9	6519	24. XI. 14	24. XI. 14	25. XI. 14	25. XI. 14	1 : 20 000 +	Aus dem Leichenblut Choleravibrionen gezüchtet
10	6642	25. XI. 14	26. XI. 14	26. XI. 14	27. XI. 14	1 : 20 000 +	
11	6753	23. XI. 14	28. XI. 14	28. XI. 14	29. XI. 14	1 : 20 000 +	
12	6755	17. XI. 14	28. XI. 14	28. XI. 14	29. XI. 14	1 : 20 000 +	
13	8630	19. XII. 14	22. XII. 14	22. XII. 14	29. XII. 14	1 : 20 000 +	
14	8636	?	27. XII. 14	27. XII. 14	29. XII. 14	1 : 10 000 +	
15	8728	?	29. XII. 14	29. XII. 14	30. XII. 14	1 : 20 000 +	Vgl. Tab. I No. 27

dient, steht an Elektivität für Choleravibrionen dem Pilon-Agar ganz entschieden nach, doch ist das Wachstum der Choleravibrionen ein rascheres, und außerdem ist seine Anfertigung eine einfache. Er hat uns in einer ganzen Reihe von Fällen, besonders dann, wenn die Zahl der Choleravibrionen in dem Ausgangsmaterial eine reichliche war, rasch zur Diagnose verholfen. Das Wachstum der Choleravibrionen ist auf dem Pilon- und auf dem Kabeshima-Agar etwa der gleiche. Es entstehen große, kreisrunde, wenig erhabene, im durchfallenden Lichte glashelle, und im auffallenden Lichte mehr graue, feuchtglänzende Kolonieen mit glattem Rand.

Außer den beiden Blutalkali-Nährböden wurde noch der gewöhnliche, stark alkalische Agar verwendet. Wenn er auch in seiner Elektivität dem ersteren ganz zweifellos nachsteht, so ist doch auch auf ihm das Wachstum der Choleravibrionen ein durchaus charakteristisches, so daß man, falls einmal der Blutnährboden versagt, wie es uns ja tatsächlich passierte, immer noch die Agarplatte als Notbehelf zur Weiterführung der Diagnose zur Verfügung hat. So konnten in dem Fall, wo der Pilonsche unvorhergesehenerweise im Stich ließ, die Choleravibrionen von den gleichzeitig angelegten Agarplatten ohne besondere Schwierigkeiten isoliert und zur Agglutinationsprüfung benutzt werden. Die Verwendung des Cholera-Agars neben dem Blutalkali-Agar ist also durchaus wünschenswert.

Die Agglutinationsprüfung der aus Stuhlproben und den Darmteilen isolierten Choleravibrionen wurde mit agglutinierendem

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Cholerapferdeserum vom Titer 1 : 20000 vorgenommen. Die gefundenen Choleravibrionen wurden, mit ganz wenigen Ausnahmen (vgl. Tabelle I), in der Verdünnung 1 : 20000 noch prompt agglutiniert, unter der Verdünnung 1 : 10000 keiner. Die Wirksamkeit des Serums echten Cholerastämmen gegenüber wurde im Laufe der Untersuchungen dauernd geprüft. Zur Kontrolle wurden außerdem Proben mit der zur Verdünnung benutzten Kochsalzlösung und mit normalem Pferdeblutserum angesetzt. Pseudoagglutination wurde niemals beobachtet, ebensowenig wurde eine Schädigung der Vibrionen hinsichtlich der Beweglichkeit oder der Agglutinabilität durch das Wachsen auf den Blutalkali-Nährböden gefunden. Die Agglutinabilität der einzelnen isolierten Stämme war verschieden; bei einer ganzen Reihe war schon nach 1—2 Stunden Aufbewahrung im Brutschrank Agglutination bis zur Titergrenze oder doch bis 1 : 10000 eingetreten, bei anderen erfolgte sie in den schwächeren Verdünnungen rasch, während sie in den höheren erst langsamer nachfolgte, nach 8—10 Stunden bei 37° C war sie auch hier immer vollständig.

In den beiden folgenden Tabellen sind die positiven Stuhl- und Darmuntersuchungen zusammengestellt.

Bei dem in Tabelle I, No. 13 aufgeführten Fall handelt es sich um eine nicht gerade häufig festgestellte Mischinfektion von Cholera und Typhus[1]). Der Kranke wurde am 11. Nov. 1914 in das Lazarett mit katarrhalischen Lungenerscheinungen aufgenommen, nachdem er sich schon seit dem 7. d. Mts. krank gefühlt hatte. Im Lazarett entwickelte sich dann ein ziemlich schwerer Typhus (vergrößerte Milz, Roseolen, hohes Fieber usw.). Am 26. Nov. 1914 morgens traten plötzlich starke Cyanose, starke Benommenheit, reiswasserähnliche, leicht gelblichgrünlich gefärbte Stühle und Temperaturabfall auf. Am Abend des 26. Nov. 1914 starb der Kranke.

Auf der Pilonschen Blutagarplatte, welche aus dem mit Stuhl beimpften Peptonwasserkölbchen (nach 6 Stunden bei 37°) angelegt wurde, waren reichlich choleraverdächtige Kolonieen vorhanden; diese wurden durch die Agglutinationsprüfung als solche erwiesen. Auf der direkt aus dem Stuhl angelegten Blutalkaliagarplatte hatten sich verdächtige Kolonieen nur in geringer Zahl gefunden, auf der mit dem Stuhl beschickten Grünplatte waren Typhuskolonieen in mäßiger Menge gewachsen, ebenso auf der Lackmuslaktoseagarplatte. Auf dieser fand sich ferner eine helle, glattrandige, blasige, den Nährboden unverändert lassende Kolonie, die bei weiterer Uebertragung auf Peptonwasser und Blutalkaliagar als Cholerakolonie festgestellt wurde. — Eine bestimmte Ansteckungsquelle für die plötzlich einsetzende Choleraerkrankung war nicht festzustellen. Dieser Fall ähnelt in seinem ganzen Verlauf sehr dem von Doerr und Weinfurter beschriebenen.

Die unter der No. 16 und 21 in Tabelle I aufgeführte Bacillenträgerin ist die Frau eines Eisenbahnangestellten, der wahrscheinlich am 23. oder 24. Nov. 1914 bei der Reinigung der Eisenbahnstrecke mit Choleravibrionen enthaltendem Material in Berührung gekommen war und so zum Ansteckungsvermittler seiner Familie geworden ist. Von den 8 Kindern sind 3 an Cholera gestorben, während ein viertes sehr schwer an Cholera erkrankte, aber am Leben blieb. Bei dem Vater

1) Doerr u. Weinfurter, Wien. klin. Wochenschr. 1914. No. 51. — Ref. München. med. Wochenschr. 1915. No. 3, u. Girode, Sem. méd. 1893. No. 5.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und 4 Kindern, die, ebenso wie die Mutter, niemals Krankheitserscheinungen zeigten, konnten Vibrionen nicht nachgewiesen werden, wohl aber bei der Mutter bei 2 Untersuchungen, am 29. Nov. und am 2. Dez. 1914. Die Untersuchungen am 13., 16. und 19. Dez. 1914 fielen negativ aus. Die Ausscheidung der Choleravibrionen hat bei der Frau sehr wahrscheinlich nur wenige Tage bestanden, jedenfalls wohl kaum länger als 8—12 Tage[1]).

Hinsichtlich der Beschaffenheit der Choleravibrionen enthaltenden Stühle sei bemerkt, daß außer in den reiswasserähnlichen fast ausnahmslos in den stark wässerigen, bräunlich oder schwärzlich gefärbten Ausleerungen (vgl. Tabelle I, No. 7, 10, 17, 18, 26, 28) Choleravibrionen meist in Reinkultur gefunden wurden.

Unsere Beobachtungen zeigten ferner, daß die Choleravibrionen, im Gegensatz zu anderen infektiösen Darmbakterien (Ruhr- und Typhusbacillen), sich längere Zeit hindurch in den Entleerungen (Tabelle I, No. 4, 9, 23, 24, 25, 26, 29, 31) lebens- und entwickelungsfähig halten. Stühle, die 2—3, ja 6 und 9 Tage von der Entnahme bis zur Untersuchung unterwegs waren, ergaben einen stark positiven Befund, und zwar schon auf den direkt aus den Stühlen angelegten Blutagar- und Agarplatten. Das gleiche Ergebnis hatte die Untersuchung von Darmschlingen eines an Cholera Gestorbenen, die erst 7 Tage nach der Entnahme aus der Leiche dem Institut zugingen.

Besondere, durch den Krieg bedingte Verhältnisse, die hier jetzt nicht näher erörtert werden können, brachten es mit sich, daß Nachuntersuchungen (vgl. Tabelle I) nur in 6 Fällen ausgeführt werden konnten. In keinem dieser wenigen Fälle konnten Choleravibrionen über 3 Wochen hinaus nach Beginn der Erkrankung nachgewiesen werden.

II. Blutuntersuchungen.

a) Züchtungsversuche der Choleravibrionen aus Blut.

Für die Feststellung einer Choleraerkrankung, sei es am Lebenden, sei es an der Leiche, kommen Stuhl- und Darmuntersuchungen in erster Linie in Betracht und reichen für gewöhnlich hierzu auch aus. Blutuntersuchungen an Cholerakranken und an Cholera Verstorbenen treten demgemäß zurück; sie dienen meist nur zur Unterstützung der Diagnose. Die Berichte über Ausführung von Blutuntersuchungen und ihre Ergebnisse sind daher in der Literatur nicht allzu zahlreich, und doch sind die letzteren für eine ganze Reihe von Fragen auch bei der Cholera von nicht geringer Wichtigkeit. Wir wissen nach den bisherigen Untersuchungen, der Choleravibrio kann in die Blutbahn eindringen. Wann aber geschieht das? In welchem Stadium der Krankheit? Erst in den letzten Stunden vor dem Tode, wenn der Körper seine Widerstandskraft ganz oder fast ganz verloren hat, oder erst unmittelbar nach dem Tode? Handelt es sich bei der Cholera um Verhältnisse wie bei der Typhuserkrankung, oder kommen hier hinsichtlich des Eindringens der Choleravibrionen in die Blutbahn und des Verweilens in ihr andere Bedingungen und andere Folgen in Betracht? Ueber diese und weitere, mit ihnen im Zusammenhang stehende, für die Klärung der Cholerainfektion und ihres Verlaufes nicht unwichtige Fragen können in der Hauptsache nur Blutuntersuchungen Aufschluß geben. Die Lösung dieser Fragen ist schon

1) Babes, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 27. p. 501.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von verschiedenen Seiten in Angriff genommen; sie bedarf aber ohne Zweifel noch weiterer, eingehender Prüfung und Bearbeitung. Da wohl zurzeit noch jeder Beitrag, mag er noch so gering sein, hierzu mithelfen kann, erscheint die Mitteilung auch weniger Untersuchungen nicht ganz unberechtigt.

Aus äußeren Gründen war es nicht möglich, systematische Blutuntersuchungen auszuführen. Die Zahl der zu erlangenden Blutproben war gering, und unsere Zeit besonders im Anfang der Untersuchungen durch die zunächst wichtigeren von Stuhl und von Darmteilen reichlich in Anspruch genommen. Die ausgeführten Untersuchungen seien im folgenden kurz angeführt:

Es konnten Blutproben von 21 Lebenden, und zwar 5 Cholerakranken und 16 Krankheitsverdächtigen, ferner von 7 an Cholera Verstorbenen auf das etwaige Vorhandensein von Choleravibrionen untersucht werden. Die 5 Kranken sind 2 in der Tabelle I unter No. 2 und No. 15 aufgeführte Patienten, ferner 2 in der Tabelle II unter No. 11 und 12 angegebene Verstorbene, von denen Blutproben noch einen Tag vor dem Tode untersucht wurden, während der fünfte Cholerakranke ein Patient war, dessen Blutserum Choleravibrionen bis zur Verdünnung 1 : 100 agglutinierte, bei dem jedoch die wiederholten Stuhluntersuchungen negativ ausfielen.

Leider standen außer von den beiden Patienten (No. 2 und No. 15) von anderen Cholerakranken der Tabelle I Blutproben zu Züchtungsversuchen nicht zur Verfügung, auch kamen in diesen beiden Fällen die Proben erst 3, resp. 4 Wochen nach Beginn der Erkrankung zur Untersuchung:

No. 2 erkrankt: 12. Nov. 1914; Blutuntersuchung: 19. Dez. 1914.
No. 15 „ : 12. „ 1914; „ : 11. „ 1914.

Die übrigen Züchtungsversuche aus dem Blute Lebender betreffen Krankheitsverdächtige, bei welchen die gleichzeitig vorgenommenen Stuhluntersuchungen negativ ausfielen, und eine Bacillenträgerin, also Fälle, die an sich keine oder kaum die Aussicht auf erfolgreiche Züchtungsversuche boten. Es gelang in keinem dieser Fälle, Choleravibrionen im Blute nachzuweisen. Aber auch bei den 5 Cholerakranken war die Untersuchung des Blutes auf Cholera negativ. Erwähnt sei gleich an dieser Stelle, daß von den beiden nachher Verstorbenen (Tabelle II, No. 11 und 12) auch das Leichenblut 2 Tage nach der ersten Untersuchung (einen Tag nach dem Tode) zu einem Züchtungsversuch verwendet werden konnte. Doch fiel auch dieser Versuch negativ aus.

Die 7 Leichenblutproben wurden gleichzeitig mit den Darmteilen zugesandt. Sie rührten von den unter No. 1, 2, 4, 7, 9, 11 und 12 in Tabelle II aufgeführten Verstorbenen her. In den meisten Fällen war es Herzblut, nur im Fall 11 und 12 Tabelle II Blut aus der V. jugularis.

Aus dem Leichenblut gelang es 2mal, Choleravibrionen zu züchten, und zwar gaben die Blutproben von No. 7 und No. 9 der Tabelle II ein positives Resultat. Die Leichenöffnung fand bei No. 7 6 Stunden und bei No. 9 etwa 16 Stunden nach dem Tode statt.

Die Berichte über positive Züchtungsversuche aus Leichenblut sind, soweit ich aus der mir zur Verfügung stehenden Literatur ersehen habe, nicht gerade sehr zahlreich. Sewastianoff[1]), der in den Jahren 1907

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 65. p. 127.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und 1908 18 Leichen von zweifellos Cholerakranken untersuchte und 8mal Choleravibrionen im Herzblut nachweisen konnte, gibt in seiner Arbeit (p. 131—132) eine Uebersicht über die Ergebnisse früherer Untersuchungen. Während der Choleraepidemie in Petersburg 1908/09 hat Brüllowa[1]) systematische Untersuchungen über das Vorhandensein von Choleravibrionen in den einzelnen Organen an einem größeren Leichenmaterial angestellt. Er fand bei 40 Proz. in der Vena portae und bei 38 Proz. im Herzblut Choleravibrionen. Des weiteren berichtet Tanda[2]), daß es ihm während der Choleraepidemie in Malfetta im Jahre 1910 gelang, aus dem Herzblut eines Verstorbenen Choleravibrionen zu züchten.

Bei der Untersuchung der Blutproben wurde folgendermaßen verfahren: Das von Lebenden eingesandte Blut wurde zentrifugiert, eine zur Agglutinationsprüfung ausreichende Menge Serum abgegossen bzw. abpipettiert und der ganze Blutrest alsdann in ein Kölbchen mit 50 ccm Peptonwasser getan. Bei den ersten Untersuchungen kam das Kölbchen dann sofort in den Brutschrank, bei den späteren wurde noch sterile Rindergalle in der gleichen bis doppelten Menge wie das Blut hinzugesetzt und in den Kölbchen Blut, Galle und Peptonwasser durch Schütteln gut miteinander vermischt, und endlich wurden bei einer Anzahl Proben 2 Kölbchen angesetzt, das eine mit, das andere ohne Gallezusatz. Die Untersuchung geschah zum ersten Male in der Regel nach 6—8-stündigem Aufenthalt, dann nach 24 Stunden und weiter alle 48 Stunden; die Kölbchen blieben 10 Tage bei 37° C stehen. Das Leichenblut wurde, mit Ausnahme desjenigen der beiden unter No. 11 und 12 in Tabelle II angegebenen Fälle, welches ebenfalls vorher zentrifugiert wurde, sonst im ganzen in das Peptonwasserkölbchen gegeben. Die beiden positiv ausgefallenen Untersuchungen gehören zu den Proben mit Gallezusatz. Es soll natürlich hiermit nicht gesagt sein, daß dem Zusatz von Galle das positive Ergebnis zu verdanken sei, fehlt doch die vergleichende Untersuchung desselben Blutes ohne Gallezusatz. Veranlaßt war die Verwendung der Galle bei den Blutuntersuchungen durch die bei der Untersuchung von Leichenmaterial[3]) festgelegte Tatsache, daß nach dem Darmtraktus Choleravibrionen am häufigsten in der Gallenblase gefunden werden. Der Gedanke, daß durch Gallezusatz die Wirkung des Peptonwassers gesteigert werden könnte, war daher wohl nicht ganz von der Hand zu weisen, wenn andererseits auch die von Schürmann und Abelin[4]) mit dem Ottolenghischen[5]) Galleverfahren gemachten Beobachtungen vielleicht nicht dazu ermutigen.

B. Agglutination.

Die Agglutinationsprüfung mit dem Serum Cholerakranker hat nicht die Bedeutung wie die Widalsche Reaktion für den Typhus. Sie fällt trotz bestehender Cholerainfektion verhältnismäßig oft negativ aus [Bürgers[6]), Swensen[7]), Janssen[8])]; sie weist auch oft

1) Veröffentl. a. d. Geb. d. Medizinalverwalt. Bd. 2. 1913. p. 210.
2) Hyg. Rundsch. 1911. p. 829.
3) Vgl. die oben zitierten Arbeiten von Sewastianoff und von Brüllowa.
4) Arb. a. d. Inst. z. Erforsch. d. Infektionskrankh. in Berlin. 1912. H. 7. p. 18.
5) Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 58. 1911. p. 369.
6) Hyg. Rundsch. 1910. p. 169.
7) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 64. 1909. p. 346.
8) Klin. Jahrb. 1911. p. 120.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

genug kaum einen höheren Titer als bei Gesunden oder an anderen Krankheiten Leidenden (Bürgers, Swensen, Janssen) auf, und es zeigt die Zeit ihres Eintrittes nach Beginn der Erkrankung ziemlich erhebliche Unterschiede und Schwankungen (Swensen).

Doch ist wohl der von Gaffky[1]) aufgestellte Satz, daß ein positiver Ausfall der Agglutinationsprobe in der Verdünnung 1:50 für das Bestehen oder Ueberstandenhaben einer Cholerainfektion spricht, als zu Recht bestehend anzusehen.

Agglutinationsbestimmungen mit dem Serum Cholerakranker wurden 9mal vorgenommen, darunter mit dem Serum eines Patienten (Tabelle No. 1a und 1b) 2mal, und zwar 5 und 18 Tage nach Beginn der Erkrankung. Alle diese Agglutinationsproben waren mindestens in der Verdünnung 1:50 positiv. Der Pfeiffersche Versuch wurde daher mit Patientenblut nicht angestellt. Die folgende Tabelle gibt eine Uebersicht über die Ergebnisse der Agglutinationsbestimmungen:

Lfde. No.	Tagebuch-No.	Erkrankt am	Gestorben am	Tag der Agglutinationsprüfung	Agglutinationstiter	Verwendete Cholerakultur
1a	6751	22. XI. 14	—	27. XI. 14	1:50 +	Kiew, älterer Laboratoriumsstamm
1b	7647	22. XI. 14	—	11. XII. 14	1:100 +	7384, am 7. XII. 14 isoliert
2	6753	23. XI. 14	28. XI. 14	27. XI. 14	1:50 +	Kiew
3	6755	17. XI. 14	28. XI. 14	27. XI. 14	1:50 +	
4	7477	20. XI. 14	—	9. XII. 14	1:100 +	5776, am 16. XI. 14 isoliert
5	7627	12. XI. 14	—	10. XII. 14	1:100 +	7384
6	7628	13. XI. 14	—	11. XII. 14	1:100 +	
7	7667	26. XI. 14	—	12. XII. 14	1:50 +	
8	8131	12. XI. 14	—	19. XII. 14	1:250 +	Homolog. Kultur, isoliert am 13. XI. 14

Bei den in der Tabelle unter No. 1b, 5, 6, 7 und 8 genannten Patienten war bei Vornahme der Agglutination Cholera bakteriologisch bereits festgestellt, bei 1a, 2 und 3 noch nicht. Die Züchtung aus dem Stuhl gelang aber auch hier kurz darauf und bestätigte die auf Grund des Ausfalles der Agglutination und der klinischen Erscheinungen gestellte Diagnose „Cholera“.

Bei dem Patienten No. 4 glückte der Nachweis der Choleravibrionen im Stuhl nicht. Trotzdem ist wohl auch dieser Fall, in Berücksichtigung der klinischen Erscheinungen, nach denen er sich allerdings nur als eine leichte Erkrankung an Cholera darstellte, auch bakteriologisch als Cholerainfektion zu betrachten.

Nach der Tabelle wurde ein positiver Ausfall der Agglutination in der Verdünnung 1:50 und darüber mit Blut von Cholerakranken erzielt, das 4—28 Tage nach der Erkrankung entnommen war. Bei 2 Kranken (No. 2 und 3 der Tabelle) gab das Serum noch am Tage vor dem Tode eine positive Agglutination, und es sei hier gleich angeführt, daß bei diesen beiden das Serum des am folgenden Tage mehrere Stunden nach dem Tode entnommenen Blutes noch den gleichen Agglutinationstiter aufwies.

Darauf, daß mit der homologen Kultur (No. 8 der Tabelle) der höchste Agglutinationswert (1:250) erzielt wurde, sei nur hingewiesen[2]).

1) Klin. Jahrb. Bd. 16. 1905. p. 341.
2) Oya, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 34. p. 202.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Leider reichte die Serummenge für eine zweite Agglutinationsprobe mit einer anderen Kultur nicht aus, und es war auch nicht möglich, ein zweites Mal Blut des Patienten zu erhalten.

Benutzt wurden zu den Agglutinationsbestimmungen neben einem älteren Laboratoriumsstamm „Kiew" frisch isolierte Stämme. Ein Unterschied in der Agglutinabilität machte sich nicht bemerkbar. Die mit diesen Stämmen und einem hochwertigen Choleraserum (1:20000) jedesmal angestellte Kontrollprüfung ergab eine gute, bei beiden Arten gleiche Agglutinationsfähigkeit der Kulturen. Als weitere Kontrolle wurde jedesmal 1 Oese Kultur in steriler Kochsalzlösung verrieben.

Als positiv wurde der Ausfall der Agglutination nur dann angesehen, wenn makroskopisch deutliche Häufchenbildung bzw. Bodensatz mit völliger Klärung der darüber stehenden Flüssigkeit vorhanden war. Die Beobachtung erfolgte 2—24 Stunden bei 37° C.

Zum Vergleich wurden mit dem Serum von 14 nicht an Cholera Erkrankten Agglutinationsbestimmungen vorgenommen. Es wurden hierzu dieselben Cholerareinkulturen verwendet und auch sonst in der gleichen Weise verfahren, wie bei den Agglutinationsprüfungen der Krankensera. Die Sera rührten fast alle von Leuten her, die an Darmkatarrhen litten, und von denen gleichzeitig Stuhlproben zur Untersuchung auf Choleravibrionen oder Typhus- oder Ruhrbacillen eingesandt worden waren; in einem Falle litt der Patient an Typhus und in einem anderen an Ruhr. Die Agglutinationsbestimmungen mit diesen Seris hatten ein negatives Ergebnis, denn die dreimal in der Verdünnung 1:10 festgestellte Agglutination ist als ein positiver Ausfall der Probe nicht anzusehen.

Bis zur Verdünnung 1:10 agglutinierten auch die Sera zweier Bacillenträgerinnen und eines Bacillenträgers, während die dreier etwa 3 Wochen vorher gegen Cholera immunisierter Gesunder irgendeine agglutinierende Wirkung auf Cholerabacillen nicht erkennen ließen.

Beuthen (O.-S.), 18. Febr. 1915.

Nachdruck verboten.

Zusatz.

Zur Frage der Verwendbarkeit alkalischer Blutnährböden für die praktische Choleradiagnose.

Von **W. v. Lingelsheim.**

Wie aus den vorstehenden Mitteilungen von Jacobitz hervorgeht, haben wir uns für die praktische Choleradiagnose im weiten Umfange und mit Vorteil der alkalischen Blutnährböden bedient. Für ihre Herstellung finden wir in der Literatur eine ganze Anzahl von Vorschriften, von denen wir die am aussichtsreichsten erscheinenden an dem zur Verfügung stehenden frischen Materiale durchprüften. Hierbei konnten wir bald erhebliche, für die praktische Verwendbarkeit ins Gewicht fallende Unterschiede konstatieren.

Was zunächst den ältesten dieser Nährböden, den von Dieudonné, betrifft, so zeigte sich auch in unseren Versuchen, entsprechend den

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Beobachtungen anderer Autoren, daß die damit beschickten Platten frisch weder Cholera noch andere Bakterien, außer etwa Kokken, zum sichtbaren Wachstum kommen ließen. Erst wenn die Platten einer höheren Temperatur ausgesetzt waren und noch 24 Stunden offen gestanden hatten, entwickelten sie die gewünschten Eigenschaften, d. h. sie ermöglichten den Cholerabakterien noch ein gutes Wachstum, während sie die meisten in Betracht kommenden konkurrierenden Bakterien in erheblichem Grade zurückhielten. Wodurch es begründet ist, daß die frische Dieudonné-Platte so bakterienhemmend wirkt, scheint mir noch nicht genügend geklärt. Einige Autoren nehmen an, daß in dem Nährboden sich bildendes Ammoniak dem Wachstum, namentlich der Cholerabakterien, hinderlich sei und erst entweichen müsse. Wie dem auch sei, jedenfalls haben auch wir uns bei unseren vergleichenden Untersuchungen überzeugen können, daß man bei der Verwendung des Dieudonnéschen Agars von der gegebenen Vorschrift nicht ohne Nachteil abweichen kann. In dieser verhältnismäßig zeitraubenden Präparation des Nährbodens liegt aber offenbar ein Nachteil für seine praktische Verwendung, namentlich wenn es sich um die Feststellung erster Cholerafälle handelt. Von der eben erwähnten Annahme ausgehend, daß bei dem Dieudonnéschen Nährboden sich bildendes Ammoniak das hindernde Moment sei, haben dann Neufeld und Woithe einen Zusatz von Milchsäure empfohlen, und Pilon hat einen Nährboden angegeben, bei dem das defibrinierte Blut, statt mit Normalkalilauge, zu gleichen Teilen mit einer 12-proz. Lösung kristallisierter Soda versetzt wird. Dieser Blutnährboden soll nach Pilon sofort zur Verwendung geeignet sein. Wir konnten diese Angabe durchaus nicht bestätigen. Mischten wir defibriniertes Blut in dem vorgeschriebenen Verhältnis mit der 12-proz. Sodalösung, setzten zu der Mischung im Verhältnis von 3:7 Agar hinzu, so blieb auf den damit angelegten Platten, ebenso wie auf frischen Dieudonnéschen Platten, das Wachstum von Cholerabakterien aus oder trat erst so spät und so kümmerlich in Erscheinung, daß die praktische Verwendung eines solchen Nährbodens gar nicht in Frage kommen konnte. Verfuhren wir dagegen etwas anders, ließen wir die Blut-Alkalimischnng 1—2 Tage stehen und mischten sie dann erst mit Agar, so wurde ein Nährboden gewonnen, der unter starker Zurückhaltung anderer Bakterien, namentlich der Coli-Arten, ein durchaus ausreichendes Wachstum der Cholerabakterien ermöglichte und dem Dieudonnéschen Nährboden gleichwertig oder vielleicht etwas überlegen war; d. h. schon nach 12—18 Stunden waren die Cholerakolonieen, wenn auch noch klein, so doch deutlich sichtbar und erreichten nach 24 Stunden die Größe von etwa 2 mm und mehr. Noch üppiger gestaltete sich das Wachstum, wenn die Blut-Alkalimischung statt bei Zimmertemperatur oder im Eisschrank auf etwa 12—16 Stunden im Brutschrank gehalten war. Allerdings war sie dann einige Male für die Verwendung unbrauchbar geworden, da sie sich in eine gallertige Masse verwandelt hatte, was stets eintrat, wenn sie, statt bei Bruttemperatur, auch nur wenige Stunden bei einer Temperatur von 45° C gestanden hatte. Auch noch in anderer Weise zeigt sich die nach Pilon hergestellte Blut-Alkalimischung nach 1—2-tägigem Stehen gegenüber einer frischen verändert, indem sie nämlich in der Hitze sterilisierbar geworden war. Pilon gibt an, daß seine Blutmischung sterilisierbar sei, macht aber keine näheren Angaben darüber. Bei unseren Versuchen trat stets Erstarrung ein, wenn wir die Mischung bald nach ihrer Herstellung zu

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sterilisieren versuchten. Erst nach einigem Stehen, und wenn sie gut umgeschüttelt war, blieb sie noch nach dem Erhitzen ausreichend flüssig.

Wesentlich anders als die hier angegebenen Nährböden, die immer auf der Verwendung von defibriniertem Blut beruhen, sind nach unseren Erfahrungen diejenigen zu bewerten, bei denen das defibrinierte Blut durch käufliche Hämoglobinpräparate ersetzt wird. Hierzu gehören der Nährboden von Esch, bei dem das Hämoglobin Merck verwendet wird, und der von Kabeshima angegebene mit Hämoglobin Pfeuffer. Bemerkt sei, daß der Alkaligehalt der nach Esch hergestellten Nährböden sich etwas geringer, der nach Kabeshima etwas höher stellt, als der von Dieudonné und Pilon angegebene. Unsere Erfahrungen mit diesen Nährböden gehen nun dahin, daß das Wachstum von Cholerabacillen frühzeitiger und üppiger auftritt, als auf gleichzeitig angelegten Dieudonné- oder Pilon-Platten, daß aber auch die elektive Fähigkeit, das Zurückhalten der anderen Bakterienarten erheblich herabgesetzt ist, womit der Hauptvorteil, den wir bezwecken, größtenteils in Verlust geht. Namentlich gilt dies von dem Nährboden nach Esch, weniger dem von Kabeshima. Erwähnt sei noch, daß der gleichfalls von uns verwandte sogenannte „Blut-Alkaliagar für Cholera nach Dieudonné", der von der Firma Bram-Leipzig als Pulver in den Handel gebracht wird, sich ganz wie die Hämoglobinnährböden verhielt und dem Eschschen Nährboden am nächsten kam. So sehr wir also auch für gewisse Verhältnisse die Annehmlichkeit schätzen müssen, nicht auf frisches Blut angewiesen zu sein, sondern mit Präparaten, die in beliebiger Menge käuflich zu haben sind, arbeiten zu können, so vermögen wir doch aus unseren Erfahrungen heraus, diese Nährböden nicht für mehr als für einen Notbehelf zu erklären.

Nach alledem erscheint uns der in Berücksichtigung unserer oben angeführten Erfahrungen hergestellte Pilon-Nährboden für die praktische Choleradiagnose am empfehlenswertesten, weil er, wenn auch sonst nicht dem Dieudonnéschen überlegen, ohne weiteres verwendbar ist. Die sterilisierten Blut-Sodamischungen sind lange haltbar und verlieren nichts an ihren Eigenschaften. Wir hatten hier, als die Choleruntersuchungen an uns herantraten, ein Quantum von etwa 2 l vorrätig, das, über 1 Jahr alt, bei wiederholten Prüfungen mit Kulturen sich bewährt hatte und uns von vornherein bei der praktischen Choleradiagnose die besten Dienste leistete. Ganz besonders dürfte sich der Nährboden auch für Massenuntersuchungen eignen, bei denen das Peptonwasserverfahren, ungeachtet seiner sonstigen Vorzüge, durch die Notwendigkeit der wiederholten mikroskopischen Kontrolle ohne entsprechend zahlreiches und geschultes Personal kaum durchführbar ist.

Ueber das eigentlich Wirksame bei den alkalischen Blutnährböden, das ihnen die besondere elektive Fähigkeit verschafft, haben auch unsere, nur unter praktischen Gesichtspunkten ausgeführten Versuche keine weitere Aufklärung gebracht. Nach der Richtung vermag mich auch die neuerdings von Lentz (Deutsch. med. Wochenschrift 1915, No. 15) gegebene Deutung nicht ganz zu befriedigen, da es bei den Vorgängen, die die Bildung der elektiv wirkenden Substanzen bedingen, außer auf das Alkali und die Dauer seiner Einwirkung noch auf den Umstand des der Alkaliwirkung ausgesetzten Hämoglobins wesentlich anzukommen scheint.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Die Spezifizität des Drusestreptococcus, mit besonderer Berücksichtigung des Vergärungsvermögens gegenüber Kohlehydraten usw.

[Aus dem Serumlaboratorium der Kgl. Tierärztlichen und Landwirtschaftlichen Hochschule zu Kopenhagen; Vorstand: Prof. Dr. med. C. O. Jensen.]

Von Tierarzt **Vald. Adsersen,** Assistenten am Serumlaboratorium.

Mit 1 Figur.

Es ist eine vielerörterte und stark umstrittene Frage, ob die als konstanter Befund bei einer Reihe von Krankheitsprozessen sowohl bei Menschen als auch bei Tieren vorkommenden Streptokokken als eine Einzelart mit nach Zeit und Aufenthaltsort schwankenden, pathogenen Eigenschaften oder als eine größere oder kleinere Anzahl von Arten, Typen, Varietäten je mit einem spezifischen, pathogenen Vermögen aufzufassen sind. Zahlreiche Forscher haben sich mit dieser Frage beschäftigt, und mannigfache Untersuchuugen sind angestellt worden, um eine Abgrenzung von Typen mit ausgesprochenen und konstanten Verschiedenheiten betreffs der morphologischen, kulturellen und serologischen Verhältnisse zu ermöglichen; es ist bisher aber noch nicht gelungen, sichere Unterscheidungsmerkmale ausfindig zu machen, ein Umstand, der dazu beigetragen hat, die Auffassung der verschiedenen Streptokokken als Einheit zu unterstützen.

Von einem bestimmten Streptokokkenleiden — nämlich der Druse des Pferdes — gilt indessen, daß die Epidemiologie dieses Leidens mit großer Bestimmtheit darauf hindeutet, daß dessen Streptococcus, Streptococcus equi, den Schütz, Sand und Jensen sowie Poels fast gleichzeitig und voneinander unabhängig isolierten und beschrieben, und der als Ursache des Leidens festgestellt worden ist, als ein ganz spezifisches, von anderen Streptokokken verschiedenes Mikrobion aufzufassen ist, eine Auffassung, die denn auch bei den genannten Autoren zum Ausdruck kommt.

Wird diese Annahme nun durch vergleichende Untersuchungen über den Drusestreptococcus und andere Streptokokken bestätigt? Solange von einem Vergleich kultureller, morphologischer und serologischer Eigentümlichkeiten die Rede ist, sind die Verschiedenheiten etwas unsicher, und namentlich sind die Charakteristika, die angegeben worden sind, nicht allgemein anerkannt; dagegen scheint es, daß wir an der zuerst von Gordon (4) systematisch angewandten Untersuchung des Vermögens der Streptokokken, unter Säurebildung verschiedene Kohlehydrate, polyvalente Alkohole und Glykoside zu spalten, ein Mittel zur Unterscheidung des Drusestreptococcus von anderen Streptokokken gewonnen haben.

Untersuchungen über das Vergärungsvermögen der Drusestreptokokken gegenüber Kohlehydraten usw. sind eine Reihe von Jahren hindurch in großer Ausdehnung in unserem Laboratorium angestellt worden, wo fortwährend — auf Serumherstellung abzielend — neue Drusestreptokokkenstämme reinkultiviert werden. Die Untersuchungen wurden namentlich von Holth (6) betrieben, und zwar als Glied von umfassenden

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Vergärungsversuchen mit einer großen Anzahl von Streptokokkenstämmen, die aus verschiedenen Krankheitsprozessen bei Menschen und Tieren isoliert waren. Verschiedene Umstände haben Holth vorläufig verhindert, einen ausführlichen Bericht über die Resultate seiner Versuche zu veröffentlichen, und es liegt nur eine vorläufige Mitteilung darüber vor in C. O. Jensens Artikel über „Spezifische Prophylaxe und Therapie gegen Streptokokkenkrankheiten" in Klimmer und Wolf-Eisners Handbuch der Serumtherapie und Serumdiagnostik in der Veterinär-Medizin. Aus dieser Mitteilung geht hervor, daß Holth bei der Untersuchung von 43 Drusestreptokokkenstämmen verschiedener (dänischer, schwedischer, deutscher, russischer, irländischer und englischer) Herkunft stets eine vollständige Uebereinstimmung des Gärungsvermögens gegenüber im ganzen 31 verschiedenen Stoffen vorfand; alle untersuchten Stämme vermochten unter Säurebildung, aber ohne Gasentwickelung, folgende Stoffe zu spalten: Dextrose, Mannose, Galaktose, Lävulose, Maltose, Cellobiose, Saccharose, Glykogen, Dextrin, Amylum solubile, Salicin und in geringem Grade Arbutin, wogegen sie nicht vermochten, Sorbose, Xylose, Arabinose, Rhamnose, Glykoheptose, Trehalose, Formose, Gentiobiose, Laktose, Raffinose, Inulin, Sorbit, Mannit, Dulcit, Adonit, Glyzerin, Erythrit, Perseit und Amygdalin zu spalten[1]).

Durch diese Vergärungsverhältnisse wichen die Drusestreptokokken von allen anderen untersuchten (im ganzen über 100, aus verschiedenen Krankheitsprozessen bei Menschen und Tieren isolierten) Streptokokkenstämmen ab.

Von anderen Untersuchern, welche Gordons Methode zum Vergleich zwischen dem Streptococcus equi und anderen Streptokokken benutzt haben, scheinen Laabs (8) und Pricolo (10) die Anwendung der Methode mißverstanden zu haben, indem sie sich darauf beschränken, festzustellen, daß bei der Vergärung gegenüber einer Reihe von Zuckerarten kein Gas gebildet wird, während man nichts von einer eventuellen Säurebildung erfährt. J. Koch und N. Pokschischewsky (7) kamen bei der Untersuchung von 26 Drusestreptokokkenstämmen gegenüber Dextrose, Lävulose und Mannit zu demselben Resultat wie Holth, nämlich daß Dextrose und Lävulose unter Säurebildung gespalten wurden, Mannit dagegen nicht. Bei weiterer Untersuchung von 10 dieser Stämme gegenüber Mannose, Galaktose, Maltose, Laktose, Saccharose, Raffinose, Sorbit und Dulcit verhielten sich nur 6 der Stämme in Uebereinstimmung mit Holths Angaben, während die 4 übrigen dadurch abwichen, daß sie sowohl Laktose als auch Sorbit spalteten. Bei Versuchen mit 5 Drusestreptokokkenstämmen gegenüber 23 Stoffen kam Maaß (9) zu Resultaten, die nicht wenig von denen Holths abwichen, namentlich gegenüber Raffinose, Inulin, Sorbit, Amygdalin, Mannit und Laktose. Zu bemerken ist dabei, daß Maaß, während die betreffenden Zuckerarten usw. bei Holths, Kochs und Pokschischewskys Versuchen in Serumbouillon gelöst waren, zu seinen Untersuchungen Peptonserumwasser anwandte, um die geringe, spontane Säurebildung zu verhindern, die man ab und zu bei Anwendung von Serumbouillon vorfindet.

Diese in der Literatur vorliegenden Abweichungen von Holths Resultaten veranlaßten mich, eine größere Anzahl von Drusestreptokokken-

1) Die angegebenen Stoffe wurden von E. Merck, Darmstadt, und C. A. F. Kahlbaum, Berlin, bezogen. Cellobiose, Trehalose, Formose und Gentiobiose sind nicht im Handel zu haben, sondern wurden von mir nach den in v. Lippmanns Chemie der Zuckerarten angegebenen Methoden hergestellt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

stämmen auf denjenigen Nährböden zu untersuchen, über welche entgegengesetzte Angaben vorliegen. Das benutzte Kulturmaterial umfaßte im ganzen 54 verschiedene Stämme, von denen 40 von mir selbst in der Zeit vom Februar 1912 bis Januar 1914 isoliert und reinkultiviert wurden, während die übrigen 14 noch älter sind — der älteste davon wurde im Juli 1909 isoliert. Es handelt sich also um ein recht verschiedenartiges Material, teils um frisch isolierte Stämme, teils um Stämme, die bis über 4 Jahre hindurch zahlreichen Umsaaten unterworfen waren. Mit einer einzigen Ausnahme wurden alle diese Stämme durch gewöhnliche Plattenverteilung aus Lymphdrüsenabszessen von Pferden isoliert, die von einer typischen Druse befallen waren.

Die Stoffe, gegenüber denen ich das Vergärungsvermögen meiner Stämme prüfte, sind folgende: Laktose, Raffinose, Inulin, Mannit, Sorbit und Amygdalin, d. h. eben die Stoffe, bei denen Kochs und Pokschischewskys sowie Maaß' Untersuchungen Resultate ergaben, die von denen von Holth abweichen; außerdem wurden alle Stämme gleichzeitig gegenüber Salicin geprüft. Die Versuche wurden so ausgeführt, daß ich in gewöhnlicher Weise eine Bouillon aus 20 ccm Cibils Fleischextrakt und 10 g Witte-Pepton zu jedem Liter gewöhnlichen Wassers herstellte. Nachdem das Pepton gelöst worden war, wurde mit Natronhydratlösung neutralisiert, die in einer solchen Menge zugesetzt wurde, daß eine kleine Probe der filtrierten Bouillon bei Zusatz einer alkoholischen Phenolphthaleinlösung eine schwache, rötliche Farbe annahm. In 7 Kolben, die je 300 ccm dieser Bouillon enthielten, wurden $1^1/_2$ g, d. h. $^1/_2$ Proz. der genannten Stoffe gelöst, worauf $^1/_2$ Stunde lang in strömendem Wasserdampf sterilisiert wurde. Nach Abkühlung wurden jedem Kolben 30 ccm = 10 Proz. sterilen Pferdeserums zugesetzt, und der Inhalt der Kolben wurde dann in sterile Reagensgläser mit je 5 ccm verteilt. Die Gläser standen 2 Tage lang bei 37° im Thermostaten, damit ihre Sterilität vor der Besäung, die mit einer Impfnadel aus Stichkulturen der betreffenden Stämme in Serumagar ausgeführt wurde, kontrolliert werden konnte. Nach 1-tägigem Aufenthalt im Thermostaten bei 37° C ließ sich in allen besäten Gläsern kräftiges Wachstum feststellen, und ferner gab sich im Laufe von 1—$1^1/_2$ Tagen eine Säureproduktion in allen Salicinserumbouillongläsern dadurch zu erkennen, daß in diesen Gläsern feine Flocken gefällt wurden, die sich bald zu einem kräftigen, flockigen Bodensatz in den Gläsern ansammelten. Diese Bodensatzfällung, die von einer, infolge des zunehmenden Säuregrades des Nährbodens stattfindenden Fällung der Eiweißstoffe in dem zugesetzten Serum herrührt, ist so charakteristisch, daß sie an und für sich eine Titrierung überflüssig macht; eine solche wurde indessen nach 5-tägigem Aufenthalt im Thermostaten bei allen besäten Gläsern vorgenommen. Die Titrierung ergab eine der genannten Fällung entsprechende, starke Säureproduktion in allen Salicinserumbouillongläsern, indem in jedes dieser Gläser (das, wie erwähnt, 5 ccm enthielt) nach Zusatz von einem Tropfen Phenolphthaleinlösung in Alkohol ca. 1,3 ccm $^1/_{10}$ norm. NaOH getröpfelt werden mußte, um eine schwache, rote Farbe hervorzurufen, während sich in allen übrigen Gläsern keine oder jedenfalls nur eine ganz minimale Säurebildung nachweisen ließ; nach Zusatz von einem Tropfen Phenolphthaleinlösung waren in diesen Gläsern höchstens 0,15 ccm der obengenannten Normallösung nötig, um eine schwache rote Farbe zu ergeben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In der angegebenen Weise prüfte ich 46 Stämme mit einem Resultat, das in allen Stücken Holths Untersuchungen bestätigt. Die 8 übrigen Stämme prüfte ich auf einem, von Hiss (5) angegebenen Nährboden, wo man als Lösungsmittel für die betreffenden Zuckerarten usw. eine Mischung von 1 Teil Pferdeserum + 2 Teilen destillierten Wassers anwendet, ein Nährboden, der den Vorteil bietet, daß er nach Verteilung in Reagensgläser einer $^1/_4$-stündigen Sterilisation in strömendem Wasserdampf unterworfen werden kann, ohne zu koagulieren. Auch bei diesen Versuchen wurden die genannten Stoffe in $^1/_2$-proz. Lösung angewandt; die Besäungen geschahen durch Zusatz von ein paar Tropfen 1 Tag alter Serumbouillonkultur der genannten Stämme. Auf diesen Nährböden gibt sich eine kräftige Säureproduktion dadurch zu erkennen, daß der Inhalt zu einer festen, geleeartigen Masse erstarrt; eine solche Koagulation fand bei meinen Versuchen mit dem Inhalt aller „Salicingläser" statt, während sich bei einer nach 5 Tagen vorgenommenen Titrierung in den übrigen Gläsern keine Säurebildung nachweisen ließ.

Nachdem ich in der Weise bei der Untersuchung von 54 verschiedenen dänischen Drusestreptokokkenstämmen ganz übereinstimmende Resultate gewonnen hatte, habe ich Gelegenheit gehabt, 3 deutsche und 3 italienische Drusestämme zu untersuchen, die dem Serumlaboratorium gütigst von den Herren Prof. Müller, Königsberg, und Prof. Belfanti, Milano, zur Verfügung gestellt wurden. Diese Stämme wurden in derselben Weise untersucht, wie oben angeführt — sowohl in Serum bouillon als auch auf dem von Hiss angegebenen Nährboden — gegenüber im ganzen 15 verschiedenen Zuckerarten usw. (nämlich: Dextrose, Laktose, Saccharose, Maltose, Galaktose, Fruktose, Mannose, Raffinose, Inulin, Rhamnose, Xylose, Arabinose, Mannit, Sorbit, Amygdalin, Salicin) und stets mit einem den Angaben von Holth entsprechenden Resultat.

Im Gegensatz zu dieser vollständigen Uebereinstimmung zwischen Holths Resultaten und meinen ergänzenden Untersuchungen stehen die oben angeführten Mitteilungen von Koch und Pokschischewsky sowie von Maasz. Die Untersuchungen der beiden ersteren Autoren umfaßten, wie erwähnt, 26 Drusestreptokokkenstämme, von denen indessen nur 10 gegenüber einer größeren Anzahl — nämlich 11 Stoffen — mit dem Resultat untersucht worden sind, daß 6 Stämme sich mit Holths Angaben übereinstimmend verhielten, während die übrigen 4 dadurch abwichen, daß sie Laktose und Sorbit spalteten. Nun hat Holth (6) indessen dargetan, daß ein anderer der für das Pferd pathogenen Streptokokken, nämlich der bei der Brustseuche des Pferdes sehr oft auftretende Streptococcus (Diplococcus Schütz), abgesehen davon, daß er dieselben Zuckerarten usw. zu vergären vermag wie der Drusestreptococcus, unter Säurebildung gerade Laktose und Sorbit vergären kann — und eine von mir angestellte Untersuchung über das Gärungsvermögen einer Reihe von Stämmen dieses Streptococcus ergab stets dasselbe Resultat. Der Gedanke liegt daher nahe, ob das abweichende Verhalten der soeben genannten 4 Stämme sich nicht dadurch erklären ließe, daß diese 4 Stämme gar keine Drusestreptokokken, sondern Schützsche Diplokokken sind, daß, mit anderen Worten, bei den Fällen von Druse, von denen diese Stämme reinkultiviert worden sind, eine Mischinfektion vorgelegen hat, und daß man dann zufälligerweise Kulturen von solchen Kolonieen angelegt hat, die keine Drusestreptokokken, sondern den gleichzeitig vorhandenen Streptococcus vertraten. Solche Mischinfektionen sind mehrmals beschrieben worden. Bermbach (3) fand bei einer

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Epidemie in einem Remontedepot bei allen ergriffenen Pferden neben Drusestreptokokken Staphylokokken. Baruchello (1) hat bei Druse, namentlich wenn sie bösartig war, im Eiter und im Blute der betreffenden Pferde einen Staphylococcus vorgefunden, der neben dem Drusestreptococcus in bedeutender Anzahl vorkam (ich selbst habe in einem einzelnen Falle aus einem paranalen Abszeß bei einem im übrigen typischen Drusenfall neben Drusestreptokokken auch Staphylokokken rein kultivieren können). Bemelmans (2) bespricht eine Enzootie, in der er neben Drusestreptokokken das Vorhandensein von Schützschen Diplokokken feststellte, und endlich hat Prof. Müller, Königsberg, gleichzeitig mit den oben erwähnten 3 Drusestämmen dem Laboratorium hier 2 Kulturen überlassen, die als „Streptokokken aus Drusemischinfektion" gekennzeichnet sind. Bei der Untersuchung des Gärungsvermögens dieser beiden Kulturen fand ich vollständige Uebereinstimmung mit dem Diplococcus Schütz, darunter auch das Vermögen, Laktose und Sorbit zu spalten. Es liegen also nicht nur unzweifelhafte Fälle von Mischinfektion bei Druse vor, sondern auch Fälle, in denen die Vermischung aus dem genannten Diplococcus besteht; ich finde es deshalb nicht nur angezeigt, Kochs und Pokschischewskys Abweichungen auf diese Weise zu erklären, sondern halte es sogar für in überwiegendem Grade wahrscheinlich, daß diese Erklärung die richtige ist. Daß eine so verhältnismäßig große Anzahl von Stämmen (4 von 10) sich abweichend verhielt, kann wohl nur davon herrühren, daß die genannten Stämme aus derselben Enzootie isoliert worden sind. (Koch und Pokschischewsky teilen in ihrer Arbeit mit, daß die genannten Stämme im Oktober und November 1910 isoliert worden sind.)

Maasz hat seine Resultate in der Weise aufgestellt, daß daraus leicht ersichtlich ist, daß er Abweichungen gegenüber den früher erwähnten Zuckerarten gefunden hat, während man nicht ersehen kann, wie jeder einzelne der 5 untersuchten Drusestreptokokkenstämme sich verhält, so daß ein genauerer Vergleich zwischen seinen und unseren Resultaten sich nicht durchführen läßt, und es muß deshalb dahingestellt bleiben, worauf die verschiedenen Resultate beruhen.

Es darf nicht wundernehmen, daß die große Gleichmäßigkeit des Gärungsvermögens, die Holth und später ich selbst bei einer sehr großen Anzahl (über 100) Drusestreptokokkenstämmen der verschiedensten Herkunft (u. a. aus mehreren verschiedenen Ländern) und von sehr verschiedenem Alter feststellten in Verbindung damit, daß Holth bei der Untersuchung von Streptokokkenkulturen anderer Herkunft bei diesen nie ein entsprechendes Gärungsvermögen gefunden hat, uns die Auffassung beigebracht hat, daß man an diesem Untersuchungsverfahren ein brauchbares Mittel hat, und zwar, daß es von den bisher bekannten das beste ist, um den Streptococcus equi identifizieren und von anderen Streptokokken unterscheiden zu können. Ferner meinen wir, daß diese Gleichmäßigkeit auch für die schon im voraus durch die typische Epidemiologie der Druse unterstützte Auffassung des Drusestreptococcus als spezifisches Mikrobion in Anspruch genommen werden darf. Für diese Auffassung sprechen noch ein paar von Sand und Jensen (11) bereits 1888 erwähnte charakteristische, kulturelle Verhältnisse, nämlich die Kolonieform und die „Flügelbildung" der Stichkulturen. Von den Kolonieen geben Sand und Jensen an, daß sie linsenförmig sind und sich, von den Flächen gesehen, als kleine Scheiben präsentieren, von der Kante dagegen, als spulenförmige Figuren. An den Stellen, wohin diese

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kolonieen während des Wachstums an die Oberfläche gelangen, oder wo sie geradezu an der Oberfläche liegen, sieht man die ursprüngliche, sonst scharf konturierte Kolonie von einer gräulichen, durchscheinenden Zone umgeben, die ein eigentümliches, halbflüssiges, schleimiges, schwach prominierendes Oberflächenwachstum aufweist. Während die tiefliegenden Kolonieen von Anfang an scharf konturiert sind, beobachtet man später oft — am 2. und 3. Tage —, daß sich vom Rande her kleinere, flügelförmige Ausläufer in die Agarmasse vorschieben, von denen aus mitunter „sekundäre Flügel" auswachsen können. Die „Flügelbildung" der Stichkulturen wird folgendermaßen beschrieben: „Von dem Impfstich breitet sich das Wachstum an mehreren Stellen in ganz eigentümlichen, in der Regel senkrecht gestellten, gleichmäßig abgerundeten, flügelförmigen Ausläufern von 1—6 mm Länge aus."

Diese „Flügelbildung" ist, wenn sie auftritt, außerordentlich charakteristisch (s. nebenstehende Abbildung) und ohne Zweifel ganz typisch; jedenfalls hat Prof. C. O. Jensen, der selbst an ihrer Beschreibung Teil hat, an den zahlreichen Streptokokkenkulturen anderen Ursprungs, die er mehr als 25 Jahre hindurch Gelegenheit gehabt hat, zu beobachten, nie solche Flügel (auch nicht einmal eine Andeutung davon) gesehen [1]). Leider ist indessen das Auftreten dieser Flügel in hohem Grade inkonstant, ein Verhältnis, das diesem Charakteristikum natürlicherweise einen Teil seines Wertes nimmt. Sand und Jensen meinen, daß diese Inkonstanz von kleinen Schwankungen der Reaktion der Nährböden herrührt, und dies ist unzweifelhaft richtig. Wenn man fortwährend mit Drusestreptokokken arbeitet, erhält man ab und zu einen Agar, auf dem alle Stämme mit „Flügeln" wachsen, während man zu anderen Zeiten einen solchen erhält, auf dem gar keiner der Stämme dieses Verhältnis aufweist, obgleich der Nährboden in ganz derselben Weise zu bereitet worden ist. Man darf annehmen, daß dieser Unterschied auf kleinen Schwankungen der Reaktion des Nährbodens und möglicherweise zu-gleich auch auf Schwankungen von dessen Konsistenz beruht, und ich habe daher durch Umstich zahlreicher Drusestreptokokkenkulturen auf einer langen Reihe von Agarnährböden von schwankender Reaktion und Konsistenz eine Zusammensetzung zu finden gesucht, die das Auftreten von Flügeln bei allen untersuchten Drusekulturen sicherstellen könnte. Dies ist mir indessen nicht gelungen; das Resultat meiner diesbezüglichen Untersuchungen ist, daß die Anwendung von $1^1/_2$ Proz. Agar in Peptonfleischwasser (1 Proz. Pepton, 1 Proz. NaCl), das gegenüber Phenolphthalein neutral reagiert, der Beobachtung von „Flügelbildung" die besten Chancen bietet. Schließlich soll angeführt werden, daß ich ab und zu Gelegenheit gehabt habe,

1) Holth teilt mir mit, daß er in einem Falle „Flügelbildung" bei einem Angina streptococcus beobachtet hat.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

typische „Flügelbildung“ bei allen von mir untersuchten dänischen Drusestreptokokken, außerdem bei 3 von Belfanti empfangenen italienischen Kulturen sowie bei 2 von 3 von Müller, Königsberg, erhaltenen deutschen Kulturen zu beobachten. Ferner wiesen alle diese Kulturen bei Verteilung auf Serumagarplatten die typische Kolonieform auf; dagegen haben andere Streptokokken stämme diese Wachstumsweise nicht aufgewiesen — darunter auch nicht die beiden obengenannten, von Müller erhaltenen Stämme, die ihrem Vergärungsvermögen gemäß als Schützsche Diplokokken betrachtet werden.

Die Charakteristika, die bei unseren gegenwärtigen Untersuchungsmethoden als spezifisch für den Drusestreptococcus zu betrachten sind, wären also folgende:

1) Er weist sowohl in dem tierischen Organismus als auch in künstlichen Nährsubstraten (namentlich flüssigen) eine entschiedene Neigung auf, lange Ketten zu bilden.

2) Er gibt bei Verteilung auf Agar und Serumagarplatten Anlaß zur Bildung von typischen, linsenförmigen, scharf konturierten Kolonieen, und in Stichkulturen entsteht — unter günstigen Umständen — eine eigentümliche „Flügelbildung“ (s. obenstehende Abbildung).

3) Er ist pathogen für weiße und graue Mäuse, die nach einer Impfung entweder an einer akuten Septikämie oder an einer mehr oder minder chronisch verlaufenden Pyämie mit Abszeßbildung in Lymphdrüsen und sonstigen Organen zugrunde gehen.

4) Er besitzt (nach Laabs) hämolysierendes Vermögen gegenüber Pferde-, Rinder-, Schweine-, Ziegen-, Kaninchen- und Meerschweinchenblutkörperchen; ihm fehlt aber ein solches Vermögen gegenüber Hundeblutkörperchen.

5) Er spaltet unter Säurebildung folgende Stoffe: Dextrose, Mannose, Galaktose, Fruktose, Maltose, Cellobiose, Saccharose, Glykogen, Dextrin, Amylum solubile, Salicin, und in geringem Grade Arbutin, während er nicht vermag, Sorbose, Xylose, Arabinose, Rhamnose, Glykoheptose, Trehalose, Formose, Gentiobiose, Laktose, Raffinose, Inulin, Sorbit, Mannit, Dulcit, Adonit, Glyzerin, Erythrit, Perseit und Amygdalin zu spalten.

Literatur.

1) Baruchello, Ref. in Deutsche tierärztl. Wochenschr. 1908. p. 517.
2) Bemelmans, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70. p. 148.
3) Bermbach, Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1895. p. 483.
4) Gordon, M. H., The Lancet. 1905. Vol. 2. p. 1400.
5) Hiss, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 38. p. 667.
6) Holth, Zitiert nach C. O. Jensen, in Klimmer u. Wolf-Eisner, Handb. d. Serumther. p. 223.)
7) Koch, Jos., u. Pokschischewsky. N., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 74. p. 1.
8) Laabs, Zeitschr. f. Veterinärk. Bd. 22. p. 361.
9) Maaß, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57. p. 258.
10) Pricolo, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 55. p. 352.
11) Sand, G., u. Jensen, C. O., 12te Beretning fra d. kgl. Veterinær- og Landbohøjskoles Laborator. for landøkon. Forsøg. 1888. u. Deutsche Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 13. p. 436.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der anaëroben Bakterien der Mundhöhle.

II. Mitteilung.

Ueber einen Micrococcus.

[Aus der Kais. chirurgischen Universitätsklinik Kyoto, Japan (Prof. H. Ito).]

Von Assistent-Prof. **Y. Ozaki.**

Mit 4 Figuren.

Gelegentlich der Züchtungsversuche von anaëroben Bakterien der Mundhöhle gesunder Individuen gelang es mir neuerdings, einen Mikroorganismus aus dem Zahnbelag zu züchten.

Der Mikroorganismus ist etwas kleiner als der gemeine Eitercoccus und stellt in seiner typischen Form einen Diplococcus dar. Er hat in fast allen Kulturen einen Durchmesser von ca. 0,5 μ, ist in Diploanordnung 1,0 μ lang und zeigt keine großen Schwankungen in bezug auf die Dimensionen. Nur bei alten Kulturen findet man einige Degenerationsformen, wie größere Kokken und Stäbchenformen mit etwas verdickten Enden. In den dicht mit Bakterienmaterial ausgestrichenen Präparaten zeigen sich Kokkenansammlungen in scheinbarer Staphyloanordnung. Die Einzelglieder der Diplokokken sind meistens rund und nur selten an der einander zugekehrten Seite mehr oder weniger abgeplattet. Außer der Diplokokkenform werden sehr häufig runde oder etwas ovale Monokokken angetroffen. Zuweilen sind die Kokken in kurzen Ketten von 4 bis höchstens 6 Gliedern angeordnet. In den Bouillonkulturen kann man weder lange Kettenformen, noch traubenförmige Gruppen nachweisen.

Die Kokken lassen sich mit den gebräuchlichen Farbstoffen leicht tingieren, und zwar in der Regel gleichmäßig. Bei Anwendung der Gramschen Methode bleibt der Mikroorganismus gefärbt, bei etwas längerer Alkoholabspülung wird jedoch eine nicht geringe Anzahl von Kokken, selbst bei jungen Kulturen, relativ schnell entfärbt.

Eine deutliche Kapsel um die Kokken wird in keinem Falle wahrgenommen. Ebensowenig sind in verschiedenen Kulturen sporenartige Gebilde zu konstatieren (Fig. 1 u. 2).

Im lebendigen Zustand untersucht, zeigt der Mikroorganismus eine lebhafte Molekular-, aber keine Eigenbewegung.

Die optimale Wachstumstemperatur scheint bei ca. 37° C zu liegen. Bei 22—24° C erfolgt das Wachstum sehr langsam und unter 20° C überhaupt nicht.

In schwach alkalischen Nährböden ist das Wachstum am kräftigsten. Eine geringe Azidität schränkt die Wachstumsintensität deutlich ein.

Der Mikroorganismus ist ein obligater Anaërobier und wächst nie auf der Agarfläche unter freiem Luftzutritt. In Stichkulturen in Zuckeragar beginnt das Wachstum jedoch in späteren Generationen nicht selten ziemlich nahe an der Oberfläche des Substrates. Der Serumzusatz zu Nährmedien ist für seine Entwickelung nicht notwendig.

An Stichkulturen in 1-proz. Traubenzuckeragar findet man das Wachstum in Form eines grauweißlichen Fadens entlang dem Impfstiche mit ziemlich reichlicher Gasbildung. Die Ränder des Impfstiches werden

Digitized by Google

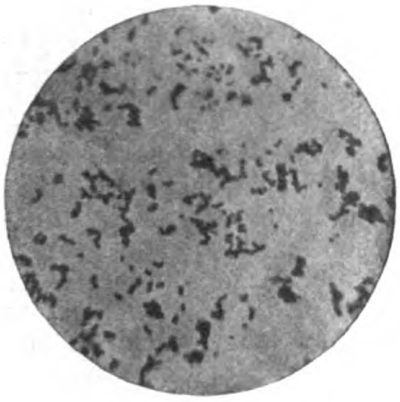
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nach einigen Tagen mehr oder weniger uneben, indem neben demselben zahlreiche kurze Ausläufer und Pünktchen entstehen. Häufig sammelt sich eine trübe Flüssigkeit auf der Oberfläche des Nährsubstrates.

Stichkulturen in gewöhnlichem Nähragar zeigen ein dem vorigen gleiches Wachstum. Nur fehlt hier die Gasbildung vollkommen oder tritt sehr wenig auf (Fig. 3 u. 4).

Schüttelkulturen in 1-proz. Traubenzuckeragar zeigen bei 37° C schon nach 24 Stunden, je nach Dichtigkeit der Aussaat, entweder eine fast diffuse Trübung mit vielen Gasbläschen oder mehr oder weniger gut isolierte Kolonieen. Nach einigen Tagen werden die letzteren meistens fast 1 mm groß. Bei schwacher Vergrößerung sind sie rundlich, leicht höckerig, oval, kartenherzförmig, wetzsteinförmig etc., scharf abgegrenzt, fast homogen oder ganz fein granuliert und sehen im durchfallenden Licht blaßbräunlich aus.



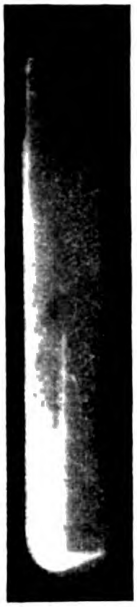


Fig. 1. Fig. 2. Fig. 3. Fig. 4.

Fig. 1. Reinkultur in 1-proz. Traubenzuckeragar. 5 Tage alt. Karbolfuchsinfärbung. Vergr. ca. 500-fach.
Fig. 2. Stichkultur in 1-proz. Traubenzuckeragar. 24 Stunden alt. Beginnende Gasbildung.
Fig. 3. Stichkultur in gewöhnlichem Nähragar. 48 Stunden alt.
Fig. 4. Schüttelkultur in gewöhnlichem Nähragar. 3 Tage alt.

Auf Traubenzuckeragar unter Wasserstoffatmosphäre erhält man bei 37° C nach 2mal 24 Stunden kleine, grauweißliche Pünktchen. Die Kolonieen können bei entsprechend verdünnter Aussaat nach mehreren Tagen bis zum Durchmesser von fast 3 mm wachsen, sind jedoch meistens ca. 1 mm groß. Sie sind rund, grauweißlich, saftig glänzend, in der Regel leicht konisch erhaben und haben manchmal ein deutliches, mamillaartig prominierendes Zentrum. Bei schwacher Vergrößerung sind sie in den peripheren Zonen hellgelblich, fast strukturlos und nach dem Zentrum zu gröber granuliert. Die zentralen Partieen zeigen ein dunkleres, gelblichbraunes Kolorit.

Strichkulturen auf 1-proz. Traubenzuckeragar, unter Wasserstoffatmosphäre bei 37° C gehalten, lassen nach 24 Stunden ganz feine

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Pünktchen erkennen, die lange Zeit isoliert bleiben. Das Kondenswasser ist leicht getrübt und enthält eine ziemlich reichliche Menge von weißlichem, körnigem Bodensatz.

Auf Kartoffeln, die unter Wasserstoffatmosphäre gehalten sind, bildet der Mikroorganismus einen anfangs kaum sichtbaren, nach einigen Tagen aber deutlich erkennbaren, grauweißlichen, glänzenden Rasen, welcher aus zahlreichen, teilweise miteinander konfluierenden Pünktchen besteht.

In Milchkulturen, die, mit Agarpfropf überschichtet, bei 37° C gehalten werden, erfolgt das Wachstum mit einer mehr oder weniger reichlichen Gasbildung; die Milch erleidet dabei keine makroskopisch erkennbaren Veränderungen.

In Traubenzuckergelatinekulturen, die mit Agar überschichtet sind, sieht man bei 37° C schon nach 2mal 24 Stunden eine leichte, flockige Trübung. Später bildet sich eine geringe Menge von weißlichem Bodensatz. Die Kulturen erstarren sofort, wenn sie ins kalte Wasser gestellt werden.

In Fleischbrühe mit 1 Proz. Traubenzucker ist nach 3mal 24 Stunden eine ziemlich starke Trübung nebst mäßiger Gasbildung nachzuweisen. Am Boden sammelt sich ein weißlicher, flockiger Satz an.

In eiweißfreien Nährlösungen bleibt das Wachstum völlig aus.

In Agarnährböden, denen Rohr-, Milch-, Fruchtzucker, Maltose oder Stärke im Verhältnis von 2 Proz. zugesetzt ist, findet eine üppige Entwickelung mit ziemlich reichlicher Gasbildung statt. Nur in den Röhrchen mit Mannit ist die Gasbildung etwas schwächer.

Zuckeragarkulturen mit Zusatz von 0,1 Proz. indigschwefelsauren Natriums zeigen bei 37° C nach 2mal 24 Stunden ein lebhaftes Wachstum mit reichlicher Gasbildung und vollständiger Entfärbung des Nährbodens.

Die Kulturen verbreiten einen ziemlich starken fäkulenten Geruch.

Die Reaktion verschiedener Nährmedien, wie Zuckerbouillon, Milch, Agar mit Zusatz von Trauben-, Milch-, Fruchtzucker, Maltose etc., erleidet durch das Wachstum des Mikroorganismus keine nachweisbaren Aenderungen.

Der Mikroorganismus bildet in Zuckerbouillon niemals Indol, dagegen Schwefelwasserstoff in reichlicher Menge.

Ein sehr üppiges Wachstum erhält man auf aërobe Weise in Kartoffelbouillonkulturen nach Wrzosek. Die Bouillon wird bei 37° C schon nach 24 Stunden diffus getrübt, und es zeigt sich dabei eine starke Gasbildung.

Die Lebensfähigkeit des Mikroorganismus in den gebräuchlichen Nährmedien ist im allgemeinen eine ziemlich beschränkte, indem sie in der 3. Generation in Agarkulturen bei 37° C etwa 10 Tage dauert. Dagegen ist die Lebensdauer bei niedrigeren Temperaturen viel länger; so ist der Mikroorganismus in Agarkulturen bei 22—24° C noch nach 3 Wochen völlig lebensfähig. Außerdem ist das Wachstum der späteren Generationen nicht selten viel langsamer als das der früheren, indem Stichkulturen der ersteren in 1-proz. Traubenzuckeragar bei 37° C erst nach 4-tägiger Beobachtung eine kümmerliche Entwickelung erkennen lassen.

Der Mikroorganismus zeigt für die gebräuchlichen kleineren Versuchstiere im allgemeinen fast keine pathogenen Wirkungen. Subkutane Injektionen von Zuckerbouillonkulturen der 3.—4. Generation verursachen bei Meerschweinchen und Mäusen in der Mehrzahl der Fälle kleine, derbe Infiltrate, die sich langsam zurückbilden. Nach intraperitonealer Injek-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tion zeigen Meerschweinchen keine deutliche Reaktion. Ebenso verhalten sich Kaninchen gegen die intravenöse Injektion von Zuckerbouillonkulturen.

Fassen wir das oben Gesagte hier kurz zusammen, so hat der von mir isolierte Mikroorganismus folgende Eigenschaften: Er ist ein kleiner, grampositiver Coccus, meist in Diploanordnung. Häufig tritt er in Form von Monokokken, zuweilen von ganz kurzen Kokkenketten auf. Er ist ein obligater Anaërobier, besitzt keine Eigenbewegung, bildet keine Sporen und wächst rapid bei 37° C, viel langsamer bei 22—24° C. Er bildet auf Traubenzuckeragar mehr oder weniger gut isolierte, grauweißliche Kolonieen und trübt die Zuckerbouillon leicht und diffus. In allen Nährböden mit Zusatz von verschiedenen Kohlehydraten bildet er ziemlich reichlich Gase, ohne dabei die Reaktion derselben zu ändern. Die Gelatine wird nicht verflüssigt und die Milch gar nicht koaguliert. Die Kulturen verbreiten einen ziemlich intensiven fäkulenten Geruch. Er bildet viel Schwefelwasserstoff, aber kein Indol und ist für Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen kaum pathogen.

Von den in Form von Diplokokken auftretenden obligat anaëroben Mikroorganismen kennen wir folgende Arten: Diplococcus orbiculus, D. magnus anaerobius und D. reniformis. Diplococcus orbiculus, der von Tissier in den Faeces kleiner Kinder gefunden wurde, ist ein sehr großer, gramnegativer Diplococcus und produziert in Kulturen niemals Gase. Diplococcus magnus anaerobius, der von demselben Autor aus faulendem Fleisch isoliert wurde, ist ein großer, grampositiver Coccus. In seinen Kulturen wird keine Gasbildung nachgewiesen. Der von Cottet in einem Hirnabszeß gefundene Diplococcus reniformis ähnelt morphologisch dem Gonococcus sehr und hat somit mit unserem Mikroorganismus nichts zu tun.

Es gibt nun folgende obligat anaërobe Mikrokokken, welche in Kulturen eine mehr oder weniger starke Gasbildung zeigen: a) Micrococcus A, von Grigoroff in einem erkrankten Wurmfortsatz gefunden, ist ein kleiner, grampositiver Coccus und tritt in Form von Monokokken oder in Haufen auf. In Zuckeragar bildet er gegen den 3. Tag runde, gelbliche, scharf abgegrenzte Kolonieen. Die Bouillon wird von ihm getrübt und sauer gemacht. Er vergärt verschiedene Zuckerarten und wächst gut in Milch, die durch Säurebildung koaguliert wird. Alle Kulturen sind nicht stinkend. Unser Mikroorganismus ist somit dem Micrococcus Grigoroffs ähnlich, bildet aber zum Unterschiede niemals Säuren; ferner sind seine Kulturen übelriechend.

b) Staphylococcus parvulus wurde von Veillon und Zuber aus dem fötiden Eiter einer Appendicitis gezüchtet. Er ist ein sehr kleiner, gramnegativer Coccus, der sowohl im Eiter als auch in künstlichen Nährböden Häufchen, Mono- und Diplokokken bildet. In Gelatinekulturen erfolgt das Wachstum bei 22° C sehr langsam, indem sich kleine, maulbeerförmige, bräunliche, körnige Kolonieen bilden, welche die Gelatine nicht verflüssigen. Bei 37° C wächst er sehr rapid und bildet in Agarkulturen gelbliche, körnige, scharf abgegrenzte Kolonieen. Er produziert eine geringe Menge von stark stinkenden Gasen, die Agarsäulen nur schwach zerspalten. Die Bouillon wird von ihm schnell diffus getrübt. Er ist für Meerschweinchen und Kaninchen etwas pathogen. Was unseren Mikroorganismus angeht, so stellt er sich in typischer Form als Diplococcus dar; diese Diploanordnung wird auch in flüssigen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nährmedien beibehalten, ohne dabei eine echte traubenförmige Gruppierung zu zeigen. Außerdem ist er grampositiv und bildet in zuckerhaltigen Nährböden ziemlich reichlich Gase.

c) Micrococcus gazogenes alcalescens anaerobius ist ein obligat anaërober, kleiner, gramnegativer Coccus, den Lewkowicz aus der Mundhöhle von Säuglingen isolierte. Dieser Mikroorganismus ist unregelmäßig groß und präsentiert sich in Form von Diplokokken, Tetraden oder in Haufen. Er wächst nicht bei 22° C. In Zuckeragar bilden sich rundliche, linsenförmige oder unregelmäßig gestaltete, grau-weißliche Kolonieen. Agarsäulen werden durch zahlreiche Gasbläschen zerspalten. Aufliegende Kolonieen sind rund, kuppelartig erhaben, graulich und sehr transparent. Die Bouillon wird von ihm getrübt unter langsamer Bildung eines staubigen Bodensatzes. Die Milch wird nicht koaguliert. Auf Kartoffeln bilden sich dünne, farblose, durchsichtige Rasen. Die Nährböden bleiben stets alkalisch und verbreiten nie einen üblen Geruch. Er ist für Versuchstiere nicht sehr pathogen. Unser Mikroorganismus ist mit diesem Coccus Lewkowiczs nicht identisch, da der letztere außer den morphologischen Verschiedenheiten keinen fauligen Riechstoff produziert und bei niedrigeren Temperaturen nicht wächst.

d) Staphylococcus minimus ist ein äußerst kleiner, obligat anaërober, gramnegativer Coccus, den Gioelli aus dem Beckenabszeß einer an Peri- und Parametritis leidenden Frau isolierte. Der Mikroorganismus kann mit den gewöhnlichen Farblösungen nur schwer gefärbt werden. In Gelatine wächst er nicht. In Zuckeragarkulturen zeigen sich nach einigen Tagen kleine, weißliche, runde Kolonieen mit reichlicher Produktion stinkender Gase. Er greift Glukose, Laktose und Maltose stark, Rohrzucker und Mannit weniger stark an. Er wächst in Milch, ohne dieselbe zu koagulieren, und bildet dabei kein Indol. Für Meerschweinchen, Kaninchen und Ratten ist er nur schwach pathogen. Zwar sind unser Mikroorganismus und dieser Coccus nahe verwandt, jedoch sind sie nicht vollkommen identisch, da sie vor allem bezüglich ihres morphologischen Verhaltens deutlich voneinander abweichen.

e) Micrococcus foetidus wurde zuerst von Veillon bei fötiden Eiterungen, wie Angina Ludovici, Perinephritis und Bartholinitis gefunden. Er hat ungefähr dieselbe Größe wie Streptococcus pyogenes und tritt sowohl im Eiter als auch in Kulturen in einfacher Form oder in kurzen Ketten von 4 bis höchstens 5 Gliedern oder in Diploanordnung auf. Er ist nach Gram färbbar. Die Kolonieen in Agarkulturen sind klein, rund und grauweiß. Gasbildung wird in den meisten Fällen nicht beobachtet. Die Bouillon wird von ihm gleichmäßig getrübt. Alle Kulturen verbreiten immer einen fötiden Geruch. Er ist für Mäuse und besonders für Meerschweinchen pathogen. Er stimmt somit mit unserem Coccus in fast allen Punkten überein. Die Unterschiede zwischen den beiden beziehen sich nur auf die Größe und die Intensität der Gasbildung in Kulturen. Unser Mikroorganismus ist nämlich viel kleiner als der gemeine Eitercoccus und bildet in zuckerhaltigen Nährböden stets ziemlich reichlich Gase, während Micrococcus foetidus ungefähr gleich groß ist wie der Streptococcus pyogenes und die Eigenschaft der Gasproduktion in den meisten Fällen nicht zeigt.

f) Der früher von mir aus dem Zahnbelag isolierte Mikroorganismus ist ein kleiner Coccus, der in verschiedenen Kulturen und auch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

im Eiter größere oder kleinere Haufen neben Mono- und Diplokokken bildet. Er ist gramnegativ, wächst bei 37° C rapid, bei 22° C sehr langsam. Die Kolonieen in Agar sind rund, rundlich oder höckerig. Auf Agar erfolgt ein streptokokkenähnliches Wachstum. In allen Nährböden mit Zusatz von Kohlehydraten produziert er reichlich Gase, ohne die Reaktion der Medien zu ändern. Die Gelatine wird von ihm nicht verflüssigt. Die sämtlichen Kulturen sind nicht stinkend. Weder Schwefelwasserstoff noch Indol wird in einem der angewandten Nährsubstrate gebildet. Für Versuchstiere ist er etwas pathogen. Dieser Mikroorganismus unterscheidet sich von unserem neuen schon dadurch, daß er sowohl im Eiter als auch in Kulturen eine echte Staphyloanordnung zeigt und bei Anwendung der Gramschen Methode schnell und vollständig entfärbt wird. Außerdem bildet er nie Schwefelwasserstoff und verbreitet keinen Gestank.

g) Endlich wurde ein anaërober Staphylococcus, Staphylococcus aërogenes, von Schottmüller bei verschiedenen Puerperalerkrankungen gefunden. Dieser Mikroorganismus liegt meistens in Traubenhaufen beisammen, tritt daneben aber in Form von Diplo-, Streptokokken u. a. auf. Er wächst auf gewöhnlichen Nährböden nicht, sondern nur auf serumhaltigen Kulturmedien. In Serum-Traubenzuckeragar bilden sich feine, wetzsteinförmige, weiß-gelbliche Kolonieen mit Entwickelung von Gasblasen, die nicht stinken. Alle diese Eigenschaften kommen unserem Mikroorganismus nicht zu.

Somit kommen wir zu dem Schluß, daß unser Mikroorganismus den oben erwähnten gaserzeugenden Kokkenarten zweifellos sehr nahe verwandt ist, ohne jedoch mit einem derselben vollkommen identifiziert werden zu können.

Literatur.

1) Cottet, J., Recherches bactériologiques sur les suppurations périuréthrales. [Thèse.] Paris 1899; Zit. nach Rist.
2) Gioelli, P., Di un particolare cocco anaerobico obbligato riscontrato in raccolta purulenta di pelvicellulite. (Boll. d. R. Accad. med. di Genova. 1907. No. 3; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 42. 1909. p. 595.)
3) Grigoroff, Contribution à la pathogénie de l'appendicite. [Thèse.] Paris 1909; Zit. nach Jungano u. Distaso.
4) Jungano, M., u. Distaso, A., Les anaérobies. Paris 1910.
5) Lewkowicz, X., Recherches sur la flore microbienne de la bouche des nourrissons. (Arch. de Méd. expérim. et d'Anat. pathol. Sér. 1. T. 13. 1901. p. 633.)
6) Ozaki, Y., Zur Kenntnis der anaëroben Bakterien der Mundhöhle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 62. 1912. p. 76.)
7) Rist, E., Neue Methoden und neue Ergebnisse im Gebiete der bakteriologischen Untersuchung gangränöser und fötider Eiterungen. (Ebenda. Abt. I. Bd. 30. 1901. p. 287.)
8) Schottmüller, H., Ein anaërober Staphylococcus (Staphylococcus aërogenes) als Erreger von Puerperalfieber. (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 64. 1912. p. 270.)
9) Tissier, Henry, Recherches sur la flore intestinale normale des enfants âgés d'un an à cinq ans. (Ann. de l'Instit. Pasteur. T. 22. 1908. p. 189.)
10) Derselbe u. Martelly, Recherches sur la putréfaction de la viande de boucherie. (Ebenda. T. 16. 1902. p. 865.)
11) Veilllon, A., Sur un microcoque anaérobie trouvé dans des suppurations fétides. (Compt. rend. hebdom. d. séanc. Soc. de Biol. T. 5. 1893. p. 807.)
12) Derselbe u. Zuber, Recherches sur quelques microbes strictement anaérobies et leur rôle en pathologie. (Arch. de Méd. expérim. et d'Anat. pathol. Sér. I. T. 10 1898. p. 517.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Mikrobenlokalisationen in der Zahnpulpa auf dem Wege der Blutbahn.

Experimentelle Untersuchungen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität Bologna. Direktor: Prof. G. Sanarelli.]

Von Dr. **Arturo Beretta,**
Professor der Zahnheilkunde an der Kgl. Universität Bologna.

Bekanntlich kann das Eindringen der Mikroben in die Zahnpulpa entweder von außen her erfolgen, wenn durch irgendeine Ursache ein Teil der sie umgebenden Kronenumkleidung verloren geht, oder durch die anstoßenden Bahnen, durch die Grenzgewebe der Wurzelspitze, wenn sich um diese pathologische Prozesse abspielen. Außerdem scheint die Annahme eines dritten Weges naheliegend, wie ja auch schon Miller[1]) vermutet hatte, der Weg durch die Blutbahn infolge der direkten Kommunikation des allgemeinen Kreislaufes mit der Blutversorgung der Zahnpulpa.

Für ein derartiges Vorkommnis fehlt aber bis jetzt ein sicherer Beweis. Die Klinik zeigt uns die Möglichkeit eines anscheinend spontanen Absterbens der Pulpa. Hiermit beschäftigten sich nach Harris[2]) schon viele Autoren; und das Leiden könnte als auf einer Mikrobenlokalisation auf dem Wege durch die Blutbahn betrachtet werden. Gegen diese Annahme läßt sich aber einwenden, daß die Zahnpulpa besondere prädisponierende, anatomische Verhältnisse aufweist, die sie gegen die Einwirkung traumatischer Ursachen empfindlich machen, wodurch es, auch wenn diese geringfügig und unbemerkt sind, zur Nekrose kommt, ohne daß dabei Mikroben beteiligt sind.

In der Tat kann sich in der Pulpa, da Kollateralkreislauf fehlt, die Zirkulation nicht wiederherstellen, sobald diese in nur einem Punkt unterbrochen wird; ebensowenig kann sie sich infolge der Mineralisation der Kronenkappe den mit den Zirkulationsstörungen einhergehenden Volumschwankungen anpassen. Diese Verhältnisse, die noch durch das Fehlen von Klappen in den Venen erschwert werden, bewirken, daß die geringen, unbemerkten, traumatischen Ursachen eine Hemmung der Pulpazirkulation hervorrufen und im Gefolge davon zu einer Nekrose führen können [Tanzer[3]), Lartschneider[4])], was noch leichter eintritt, wenn besondere prädisponierende, pathologische Umstände (Anomalien des Wurzelkanals, dyskrasische Krankheiten, toxische Zustände) den Boden empfänglich machen.

Die Möglichkeit einer Mikrobenlokalisation in der Pulpa auf dem Wege durch die Blutbahn wurde auch auf Grund der Tatsache behauptet, daß verhältnismäßig oft auf das spontane Absterben der Pulpa, das in

1) Miller, Einleitung zum Studium der Bakteriopathologie der Zahnpulpa. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 16. 1894. p. 447 ff.)

2) Harris, Dentistry. 12. von Gorges überarbeitete Aufl. Manchester. p. 300 ff.

3) Tanzer, Meine Theorie vom gesteigerten intradentalen Blutdruck. (Deutsche Monatsschr. f. Zahnheilk. 1908.)

4) Lartschneider, Die Theorie vom gesteigerten intradentalen Blutdruck und ihre praktische Bedeutung. (Oesterreich.-ungar. V. f. Zahnh. 1910. p. 74.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zähnen mit intakter Krone durch die manifeste Einwirkung äußerer Traumen erfolgte, nach einem kürzeren oder längeren Zeitraum plötzlich der Ausbruch von akuten, sicher durch Mikroben verursachten Entzündungen folgen kann. Aber auch in diesem Fall wurde der Blutbahntheorie entgegen gehalten, daß die Mikroorganismen durch feinste, mit bloßem Auge unsichtbare und nur bei der mikroskopischen Untersuchung erkennbare Risse zur Pulpa gelangen könnten (Römer, Sieberth).

Infolge dieser Einwürfe wird die logische Hypothese von Miller, der die Möglichkeit von Pulpainfektionen auf dem Wege der Blutbahn annahm, heute in Zweifel gezogen und von einigen Autoren (Boggio) sogar geleugnet.

Es ist einleuchtend, daß diese Streitfrage nur durch das Experiment entschieden werden kann, und diesen Weg habe ich auch eingeschlagen.

Wie bereits erwähnt, sind die anatomischen Verhältnisse der Zahnpulpa derartig, daß auf die Läsion des Organes kaum die Restitutio ad integrum folgt, sondern gewöhnlich artet der entzündliche Prozeß in Nekrose aus. Die Pulpainfektionen sind somit in letztem Grunde mit der Pulpagangrän zu identifizieren. Aus diesem Grunde betreffen alle bakteriologischen Untersuchungen an der kranken Pulpa speziell die Pulpagangrän.

Die bakteriologischen Untersuchungen wollten anfangs einen spezifischen Erreger der Pulpagangrän bestimmen. Doch sind die Befunde von Miller, Vignal und Galippe, Arkövy, Zierler, Cook, Sieberth, Monier, Veillon, Rodella, Mayrhofer und Ballner, Rovida, Boggio u. A. so verschieden, daß eine multiple Aetiologie für die Pulpagangrän angenommen werden muß, ohne Vorwiegen einer besonderen Mikrobenspecies und unter Beteiligung aërober und anaërober Mikroben.

Von all diesen Untersuchungen jedoch hatte keine die Bestimmung zum Zweck, ob die Mikrobenlokalisation in der Zahnpulpa auf dem Wege durch die Blutbahn erfolgen kann. Wenn es, wie Boggio behauptet, wahr ist, daß die Fäulnisbakterien niemals in den Kreislauf übergehen können, so wäre die Möglichkeit einer Pulpainfektion auf dem Blutwege nur für die eigentlichen pyogenen und septikämischen Mikroben annehmbar, sicher aber nicht für die Fäulnisbakterien. Sollten also in der Pulpa solche Keime gefunden werden, so würde die hämatische Entstehung der Gangrän von selbst ausgeschlossen.

Nun möchte ich vor allem hervorheben, daß die Behauptung Boggios nicht der Wirklichkeit entspricht, da z. B. der B. proteus, der als der Typus der Fäulnisbakterien betrachtet werden kann, sehr wohl in den Kreislauf übergehen kann. Auch abgesehen von den häufigen Proteusbefunden im Blut und in den Organen von an verschiedenen Krankheiten verstorbenen Individuen [ich erinnere daran, daß Sanarelli[1]) wiederholt den Proteus aus Leichen von an gelbem Fieber verstorbenen Individuen isolierte), bleibt doch immer die Tatsache bestehen, daß im Darm enthaltene Protei leicht über die Darmbarriere hinwegschreiten und sich unter verschiedenen Bedingungen im Kreislauf ausbreiten können. Ficker[2]) hat nachgewiesen, daß man die Tiere nur hungern zu lassen braucht, um den Proteus im Blut und in den Organen zu finden. Bekannt ist weiter, daß der Proteus im Abszeßeiter

1) Annales Institut Pasteur. 1897.
2) Arch. f. Hygiene. Bd. 54.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

innerer Organe anwesend sein kann, zu denen der einzige Zugang durch den Kreislauf geht.

Auch Achalme[1]) behauptet, daß das von ihm beschriebene und unter seinem Namen bekannte anaërobe Mikrobion (das normalerweise ein gemeiner Saprophyt des Darmes ist, aber durch Virulentwerden zu einem der aktivsten Erreger der Gasgangrän wird) häufig in den allgemeinen Kreislauf übergeht, im Blut auffindbar wird und sich schließlich an den verschiedensten Körperstellen festsetzen kann.

Nach diesen Betrachtungen teile ich nun meine experimentellen Untersuchungen mit, die ich zur Lösung des angegebenen Problems ausführte.

Die Untersuchungen wurden zuerst an Pflanzenfressern, und zwar an Meerschweinchen, dann an Hunden ausgeführt. Verwendet wurden dabei 4 Mikroben: Staphylococcus pyogenes aureus, Pyocyaneus, Prodigiosus und B. clavatus Biffi.

Es wurden davon fast avirulente Kulturen eingeimpft, denn Zweck der vorliegenden Untersuchungen war vor allem die Beobachtung der Lokalisation der Keime während der vorübergehenden Bakteriämien, die häufig unter ganz verschiedenen Bedingungen entstehen können, und nicht bei den wahren Septikämien, während deren die Mikroben konstant in Zirkulation sind und somit selbstverständlich auch im Pulpablut anwesend sein müssen.

Zur Untersuchung des genauen Verhaltens der verschiedenen Mikroben in bezug auf die Zahnpulpa wurde das Kriterium des Vergleiches mit dem benutzt, was in anderen Organen und Geweben vorgeht, und zwar wurden die Beziehungen zwischen Pulpa und Blut, wie auch zwischen Pulpa und einigen lymphoiden Organen — Milz und Knochenmark — untersucht, in denen bekanntlich die Mikroben auch noch einige Zeit nach ihrem Verschwinden aus dem allgemeinen Kreislauf zu verbleiben pflegen.

Versuche an Meerschweinchen.

Die im allgemeinen benutzte Technik war folgende: Nach Herstellung der entsprechenden Kulturen des zum Versuch bestimmten Keimes wurden diese, je nach den Fällen, einer Reihe von Meerschweinchen intravenös oder intraperitoneal eingeimpft. In verschiedenem Zeitabstand von der Injektion wurden die Tiere mit Kohlensäure erstickt. Darauf wurde unter Beobachtung der allgemeinen Vorschriften der Asepsis zu ihrer Sektion geschritten. Das mit Pasteurscher Pipette entnommene Blut der rechten Herzkammer und kleine Stücke Milz und Knochenmark wurden in die gewöhnlichen Kulturböden ausgesät. Dann wurde zur Isolierung des Unter- und Oberkiefers geschritten, die zusammen mit den Zähnen vollständig abgetragen wurden.

Die Pulpa wurde nicht durch die Zahnkrone hindurch angegriffen, sondern von dem entgegengesetzten Knochenrand aus, wodurch die Operation zu einer leichteren und präziseren wurde. Da in der Tat die Zähne dieser Tiere fast die ganze Dicke der Knochen, in denen sie stecken, einnehmen, so ist die Pulpa von der Wurzel her leichter angreifbar, weil sie hier nur durch eine dünne, oberflächliche Knochenlamelle geschützt ist.

---

1) Achalme, Microbes commensaux. (Traité d'Hygiène de Brouardel et Mosny. Vol. 17. p. 92—93.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die genaue Weise des Vorgehens war folgende: Der Knochen wurde mit einer Zange gefaßt, mit Alkohol gewaschen und dann über die Flamme weg geführt. Darauf wurde mit einer kräftigen, an der Flamme sterilisierten Schere die über der Pulpa liegende Knochenrinde abgesprengt, so daß diese bloßgelegt wurde und mit einem kleinen, sterilisierten Platinspatel leicht herausgenommen werden konnte.

Die Pulpa wurde, außer bei den Versuchen mit B. clavatus, stets auf festen Kulturböden, und zwar namentlich auf schrägem Agar kultiviert.

Auf diese Weise konnte man sich aus der Zahl der entstandenen Kolonien einen genauen Begriff von der Menge der in der Pulpa enthaltenen Mikroben machen und außerdem war es leicht, eventuelle, während der etwas komplizierten, zu ihrer Extraktion erforderlichen Manöver eingetretene Verunreinigungen zu beurteilen. Während in der Tat in Bouillon ein einziger verunreinigender Keim eine überwiegende Entwicklung nehmen und die wahren Resultate verdecken kann, kann dies in Agar nicht vorkommen, da er an der Stelle bleibt, wo er hingefallen ist, und dort eine gut isolierte Kolonie bildet.

Außerdem wurden die Kulturen auf festen Böden dadurch unbedingt notwendig, weil sich aus den vorliegenden Untersuchungen ergab, daß die Zahnpulpa der Meerschweinchen auch in vollkommen normalem Zustand Mikroben, und zwar meist banale, enthalten kann.

Schon die Tatsache, daß sich in den mit Pulpa normaler Meerschweinchen beschickten Röhren trotz der rigorosesten Technik fast konstant verschiedene Mikrobenkolonieen entwickelten, hatte den Verdacht erweckt, daß diese Kolonieen nicht von äußeren Verunreinigungen, sondern von in der Pulpa selber präexistierenden Keimen herrühren könnten. Der Verdacht wurde dann nach zwei interessanten Beobachtungen, die gemacht wurden, zur Gewißheit.

Von dem Meerschweinchen No. 8 (s. weiter unten), das mit Pyocyaneus geimpft und 3 Tage nach der Einimpfung getötet worden war, wurden 8 Zahnpulpae extrahiert und kultiviert. Aus keiner wuchs der Pyocyaneus, aber aus 2 Backenzahnpulpae wurden in Agar ca. 150 kleinste, fast punktförmige, im Zentrum wie Tautropfen durchsichtige und peripherwärts mehr opake Kolonieen kultiviert. Diese kleinen Kolonieen erwiesen sich als durch einen grambeständigen Diplococcus gebildet, der sich in Bouillon unter Trübung derselben kaum in 36 Stunden entwickelte, worauf sich das Medium durch Sedimentation der Mikroben aufhellte.

In Agarserum gab er fast die gleichen Kolonieen wie in Agar, doch etwas augenfälliger. Er wuchs nicht bei 25° und entwickelte sich infolgedessen nicht auf Gelatine und war weder für die Maus noch für das Kaninchen pathogen. Wahrscheinlich handelte es sich um einen abgeschwächten und an saprophytisches Leben angepaßten Pneumococcus.

Die zweite Beobachtung wurde bei einem normalen Kontrollmeerschweinchen gemacht. Aus einer Backenzahnpulpa dieses Tieres entwickelten sich in der Agarröhre ungefähr hundert runde, porzellanweiße Kolonieen. Diese wurden gebildet durch einen ziemlich kleinen Coccus, der die Neigung hatte, sich paarweise oder in kleinen Gruppen anzuordnen und sich der Färbung nach Gram gegenüber zweideutig verhielt. Er trübte Bouillon in mäßigem Grade, wuchs in Agar als ganz weißer Belag, verflüssigte nicht die Gelatine, brachte Milch nicht zum

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gerinnen. Eine Agarkultur war für ein Meerschweinchen von 400 g Gewicht (intraperitoneal) nicht pathogen. Dieser Coccus kann als ein Micrococcus candicans (Lehmann und Neumann) klassifiziert werden.

Es ist offensichtlich, daß in diesen zwei Fällen die Vermutung einer Verunreinigung, sei es wegen der Menge der entstandenen Kolonien, sei es, weil sie alle ein und derselben Species angehörten, unhaltbar ist. Es ist anzunehmen, daß in derartigen Fällen in der Pulpa des Meerschweinchens wahre Mikrobenkolonieen im saprophytischen Zustande vorkommen können, da sonst die beträchtliche Zahl der entwickelten Keime nicht erklärbar wäre.

Ich teile nun die Resultate mit, die bei Einimpfung der gewählten Mikroben in Meerschweinchen erhalten wurden:

Staphylococcus pyogenes aureus. Wenig chromogener Stamm, der sich in Gelatine unter typischer Verflüssigung derselben in 48 Stunden entwickelt und die Milch ebenfalls in 48 Stunden koaguliert. Die Trauben, die sich in Bouillonkulturen bilden, sind konstant aus wenig Individuen zusammengesetzt. Er ist stark grambeständig. Drei großen Meerschweinchen (1, 2, 3) im Gewicht von 690, 710 und 780 g wird in die Jugularis externa $^1/_2$ ccm einer Bouillonkultur des Staphylococcus pyogenes aureus injiziert, die durch Altern der Kultur und durch 10 Minuten langes Erhitzen auf 65° nahezu avirulent gemacht worden war.

Meerschweinchen No. 1 wird 19 Stunden nach der Einimpfung mit CO_2 erstickt. Es wird steril zur Sektion geschritten und es werden folgende Kulturen mit nachstehenden Resultaten angestellt:

Herzblut: 1 Bouillonröhre, beschickt mit 1 Tropfen, Kultur positiv
„ 1 „ „ „ 2 „ „ „
„ 1 „ „ „ 5 „ „ „
„ 2 Agarröhren, beschickt mit 7—8 Kolonieen und Kultur im Kondensationswasser.
Knochenmark: 1 Bouillonröhre, Kultur positiv.
„ 1 Agarröhre, 30—35 Kolonieen und Kultur im Kondensationswasser.
Milz: 2 Bouillonröhren, Kulturen positiv.

1. Molarpulpa	UR 1	Agarröhre,	5	Kolonieen					
2. „	UR 1	„	30	„	und Kultur im Kondensationswasser				
1. „	UL 1	„	22	„	„	„	„	„	
2. „	UL 1	„	üb. 50	„	„	„	„	„	
1. „	OL 1	„	9	Kolonieen					
2. „	OL 1	„	zahlreiche Kolonieen, zum Teil konfluierend						
1. „	UR 1	„	7	Kolonieen und Kultur im Kondensationswasser.					

Der die vorstehend aufgeführten Kolonieen bildende Staphylococcus zeigt die gleichen morphologischen und kulturellen Eigenschaften wie der eingeimpfte. Er kann daher mit ihm identifiziert werden.

Meerschweinchen No. 2, getötet 48 Stunden nach der Einimpfung. Es werden folgende Kulturen hergestellt.

Blut: 2 Bouillonröhren, Kultur negativ
„ 2 Agarröhren, „ „
Milz: 1 Bouillonröhre, „ nach 72 Stunden
Knochenmark: 1 „ „ „ 48 „
„ : 1 Agarröhre „ negativ

2. Molarpulpa	UL 1	Agarröhre,	ca. 30	Kolonieen und Kultur im Kondenswasser					
3. „	UL 1	„	„ 35	„	„	„	„	„	
2. „	UR 1	„	üb. 50	„	„	„	„	„	
3. „	UR 1	„	4	„	„	„	„	„	
2. „	OL 1	„	ca. 45	„	„	„	„	„	
3. „	OL 1	„	„ 50	„	„	„	„	„	
Pulpa der Schneidezähne	UR 1	„	8	„					

Die Identifikation des Keimes geschah wie oben.

Meerschweinchen No. 3; an der Impfstelle entwickelt sich ein eitriger Prozeß, weshalb der Versuch aufgegeben wird.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aus den Untersuchungen mit dem Staphylococcus ergibt sich, daß dieser Keim, in den Blutstrom injiziert, in der Zahnpulpa des Meerschweinchens auch noch nach seinem Verschwinden aus dem Kreislauf verbleiben kann; ja in der Zahnpulpa findet er sich sogar in größerer Menge als in der Milz und im Knochenmark. Somit ist bei diesen Tieren die Lokalisation des Staphylococcus in der Zahnpulpa auf dem Blutwege evident.

Micrococcus prodigiosus. Typisch chromogener Stamm. Drei Meerschweinchen im Gewicht von 550, 490 und 515 g (No. 4, 5, 6) wird in die Jugularis eine Aufschwemmung des auf Kartoffel kultivierten Prodigiosus in Salzwasser injiziert.

Meerschweinchen No. 4, 18 Stunden nach der Einimpfung mit CO_2 getötet. Gewöhnliches Verfahren der Sektion und Kultur.

Blut:	1 Bouillonröhre, Kultur positiv			
„	1 Agarröhre,	15 Kolonieen		
„	1 „	12 „	und Kultur im Kondenswasser	
Milz:	1 Bouillonröhre, Kultur positiv			
Knochenmark:	1 „	„	„	
„	: 1 Agarröhre, 5 Kolonieen			
Pulpa des Schneidezahns SS, 1 Agarröhre, Kultur im Kondenswasser				
1. Molarpulpa OL	1 Agarröhre,	3 Kolonieen	und Kultur im Kondenswasser	
2. „ OL	1 „	4 „	„ „ „	„
1. „ UL	1 „	—	„ „	„
2. „ UL	1 „	1 Kolonie		
1. „ UR	1 „	1 „		
2. „ UR	1 „	Kultur negativ.		

Meerschweinchen No. 5, getötet nach 24 Stunden. Nur aus einer Bouillonröhre, in die $^1/_2$ ccm Blut eingesät worden war, entwickelte sich der Prodigiosus. In anderen Röhren, die mit Blut, Milz, Knochenmark und der Pulpa von 6 Backen- und 1 Schneidezahn beschickt waren, wird keine Entwicklung des eingeimpften Keimes erhalten.

Meerschweinchen No. 6, getötet nach 3 Tagen.

Sämtliche mit Blut, Milz, Knochenmark und Zahnpulpa angelegten Kulturen fallen negativ aus.

Aus den angeführten Befunden ergibt sich, daß der benutzte Prodigiosus in der Pulpa der Zähne so lange anwesend war, als er in dem allgemeinen Kreislauf verblieb. Später war er nicht mehr nachweisbar.

B. pyocyaneus. Wenig virulenter, ziemlich chromogener Stamm. Zwei Meerschweinchen im Gewicht von ungefähr 500 g (No. 7 und 8) wird $^1/_2$ ccm einer alten Pyocyaneus-Bouillonkultur injiziert. Es wird der gealterten Kultur der Vorzug gegeben, weil bei einem vorausgehenden Versuch, bei dem eine junge Kultur benutzt worden war, die Tiere spontan verendet waren.

Meerschweinchen No. 7, getötet nach 16 Stunden.

Resultate der Kulturen:

Blut:	1 Bouillonröhre, Kultur positiv		
„	1 Agarröhre,	12 Kolonieen	und Kultur im Kondenswasser
Milz:	1 Bouillonröhre, Kultur positiv		
Knochenmark:	1 „	„	„
Pulpa-Schneidezahn UL:	1 „	„	„
1. Molarpulpa UL	1 Agarröhre,	Kultur im Kondenswasser	
2. „ UL	1 „	2 Kolonieen	
1. „ UR	1 „	3 „	und Kultur im Kondenswasser
2. „ UR	1 „	4 „	„ „ „ „

Meerschweinchen No. 8, getötet am 3. Tage.

Die mit Blut, Milz, Knochenmark und der Pulpa von 8 Zähnen angelegten Kulturen sind sämtlich negativ.

Auch bei dem Pyocyaneus sind die Resultate somit identisch mit den bei dem Prodigiosus erhaltenen: Der Keim ist nach seinem Verschwinden aus dem allgemeinen Kreislauf nicht mehr in der Zahnpulpa nachweisbar.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

B. clavatus Biffi. Die letzte Reihe der Versuche an Meerschweinchen wurde mit den Sporen eines von Biffi isolierten, saprophytischen Mikrobions ausgeführt, dem von diesem Autor nach dem Aussehen, das es beim Eintritt in die Sporenbildung annimmt, der Name B. clavatus gegeben wurde. Die Haupteigenschaften dieses Mikrobions sind folgende: 4—6 μ langer, 0,2—0,3 μ dicker, unbeweglicher Bacillus, isoliert oder zu Ketten angeordnet, gerade oder leicht gekrümmt, mit abgeplatteten Enden. Er ist weder gegen Gram noch gegen Claudius beständig.

Er ist aërob und entwickelt sich gut in 12—24 Stunden auf den gewöhnlichen Kulturböden. In Bouillon oder Agar beginnt nach 24 Stunden die Bildung der Sporen, die außerordentlich hitzebeständig sind, so daß sie ohne Schaden 1 Stunde lang gekocht werden können und auch einer 5 Minuten langen Erhitzung auf 110° widerstehen.

Der B. clavatus war für die vorliegenden Untersuchungen höchst angezeigt, da er im Verein mit einer vollkommenen Unschädlichkeit für den Organismus auch eine bedeutende Widerstandskraft gegen die Abwehrkräfte des Körpers aufweist, so daß er ohne Schädigung der Tiere recht lange in ihrem Körper verweilen kann. Außerdem erlaubt die große Hitzebeständigkeit der Sporen des Clavatus, uns gegen die Anwesenheit sonstiger Mikroben zu sichern. Kann man doch nach Anlegung der Kulturröhren mit den verschiedenen Organen die Röhren einem längeren Kochen unterziehen, wodurch die zufällig in der Pulpa vorhandenen oder durch Verunreinigungen hineingekommenen, saprophytischen Keime abgetötet werden, der Clavatus aber verschont bleibt.

Dies vorausgeschickt, bringe ich nun die Resultate der mit dem Clavatus ausgeführten Versuche, dessen Identifikation sich auf das höchst charakteristische Aussehen der Häutchen, die er in Bouillon bildet, und die keulenförmige Gestalt stützte.

4 Meerschweinchen im Gewicht von je ca. 500 g (No. 9, 10, 11, 12) werden ins Peritoneum mit ca. 2 ccm einer Emulsion von Sporen geimpft, die durch 2-wöchiges Kultivieren des Clavatus auf Agar in Rouxschen Schalen und Aufnehmen in Salzwasser erhalten waren.

Meerschweinchen No. 9, getötet 48 Stunden nach der Impfung.
Ausgang der Kulturen:

Blut	1 Bouillonröhre	Kultur	negativ
„	2 Bouillonröhren	„	positiv
Knochenmark	2 „	„	„
Milz	1 Bouillonröhre	„	„
Pulpa von 1 Schneidezahn	1 Bouillonröhre	„	„
„ „ 7 Backenzähnen je 1	„	„	„

Meerschweinchen No. 10, getötet 4 Tage nach der Einimpfung.

Blut	3 Bouillonröhren	Kultur	positiv
Milz	1 Bouillonröhre	„	„
Knochenmark	2 Bouillonröhren	„	„
Pulpa von 1 Schneidezahn	1 Bouillonröhre	„	„
„ „ 8 Backenzähnen je 1	„	„	„

Meerschweinchen No. 11, getötet 7 Tage nach der Einimpfung.

Blut	1 Bouillonröhre	Kultur	negativ
Milz	1 „	„	positiv
Knochenmark	2 Bouillonröhren	„	„
Pulpa von 1 Schneidezahn	1 Bouillonröhre	„	„
„ „ 8 Backenzähnen je 1	„	„	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Meerschweinchen No. 12, getötet 14 Tage nach der Einimpfung.

Blut	1 Bouillonröhre	Kultur	negativ
Milz	1 „	„	positiv nach 3 Tagen
Knochenmark	1 „	„	negativ
Pulpa von 1 Schneidezahn	1 Bouillonröhre	„	„
„ „ 5 Backenzähnen je	1 „	„	„
„ vom Schneidezahn I S	1 „	„	„

Die Untersuchungen mit den Sporen des Clavatus zeigen zur Evidenz, daß zirkulierende Keime sich an der Zahnpulpa festsetzen und auch mehrere Tage nach ihrem Verschwinden aus dem Kreislauf und sogar, wenn sie in den lymphoiden Organen bereits fehlen oder außerordentlich selten sind, darin verbleiben können.

Versuche an Hunden.

Die Versuche an den Meerschweinchen zeigen zwar im Prinzip die Möglichkeit der biologischen Erscheinung, die den Gegenstand der vorliegenden Abhandlung bildet, können aber nicht direkt auf die Pathologie der menschlichen Zahnpulpa Anwendung finden, da die anatomischen Verhältnisse der menschlichen Zähne von denen der pflanzenfressenden Nagetiere sehr verschieden sind.

Bei diesen Tieren haben die Schneidezähne von enormen Dimensionen, die mit dem gekrümmten Wurzelende nach hinten über die letzten Backenzähne hinweggreifen, und bei einigen Arten auch die Backenzähne offene Wurzeln und persistierende Pulpa[1]). Diese Verhältnisse im Verein mit der starken Entwickelung der in stetiger formativer Tätigkeit stehenden Pulpa weichen bedeutend von der beim Zahn des Menschen beschriebenen anatomischen Struktur ab.

Aus diesen Gründen mußten die Versuche an einem Tiere wiederholt werden, das einen ähnlichen Bau des Zahnes wie beim Menschen aufweist, und zwar geschah dies am Hund.

Die Zähne wurden auf die einwurzeligen beschränkt, und zwar, um mich soviel wie möglich an die beim Menschen auftretenden Verhältnisse zu halten, bei dem die Zähne, die spontan oder nach allgemeinen Krankheiten oder nach äußeren Ursachen von Pulpagangrän befallen werden, im allgemeinen die Schneidezähne oder die Eckzähne sind.

Aber nicht alle einwurzeligen Zähne des Hundes eigneten sich für die bakteriologischen Untersuchungen; in der Tat haben die Schneidezähne einen so engen Pulpakanal und so wenig fadenförmige Pulpa, daß die bakteriologische Untersuchung durch die geringe Masse des verfügbaren Materials zu einer wenig ergiebigen wird. Geeigneter sind dagegen die Eckzähne, die durch ihre bedeutendere Größe einen weiteren Kanal und eine reichlichere Pulpa aufweisen.

Für die Versuche an Hunden wurden die Mikroben gewählt, die bei den Versuchen an den Meerschweinchen die besten Resultate gegeben, nämlich der Staphylococcus pyogenes aureus und der B. clavatus Biffi.

Die Technik war folgende: Die Kulturen wurden intravenös eingeimpft in die V. saphena externa oder in die Randvene des Ohres. Nach Verlauf einer entsprechenden Zeit wurde das Tier durch Einblasen

1) Siehe Tomes, Dental Anatomy. London 1898. p. 448 ff., u. Paul de Terra, Vergleichende Anatomie des menschlichen Gebisses und der Zähne der Vertebraten. Jena 1911. p. 295.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von Luft in das Venensystem (Gasembolie) getötet und gleich darauf unter allen Vorsichtsmaßregeln der Asepsis die Sektion ausgeführt.

Für die bakteriologischen Untersuchungen an den Zähnen wurden diese vor allem, wenn möglich, direkt oder anderenfalls nach Zertrümmerung der Kieferknochen extrahiert. Die Zähne wurden in Alkohol gewaschen, mit einer sterilisierten Pinzette erfaßt, über die Flamme geführt und dann mit einem an der Flamme sterilisierten Meißel geöffnet. Die Pulpa wurde mit einem kleinen Platinspatel herausgenommen und in die Kulturröhre gebracht.

Im Gegensatz zu der Zahnpulpa der Meerschweinchen, ließ die Zahnpulpa der Hunde niemals fremde Mikroben erkennen. Trotzdem die Technik beim Hunde wegen der bedeutenden Dicke, die bei diesem Tiere die mineralisierten Schichten haben, schwieriger war als beim Meerschweinchen, und trotz der zur Oeffnung des Zahnes erforderlichen Kraftaufwendung war nie auch nur ein auf Verunreinigung zurückführbarer Keim wahrzunehmen. Entweder entwickelten sich die in die Venen injizierten Mikroben oder die Kulturen blieben vollkommen steril.

Bei 3 Hunden wurden folgende Resultate erhalten:

Hund No. 1, Bastard von mittlerer Größe.

Durch die Vena saphena des linken Hinterbeines werden 4 ccm einer 24-stündigen Staphylococcus-Bouillonkultur von demselben wenig virulenten Stamm wie bei den Versuchen am Meerschweinchen injiziert.

Nach 8 Stunden werden einige Bluttropfen aus der äußeren Ohrvene entnommen; die angelegten Kulturen zeigten dann, daß der Staphylococcus bereits aus dem Blutkreislauf verschwunden war. Angesichts der wahrhaft erstaunlichen Widerstandskraft, die viele Hunderassen und namentlich die Bastarde gegen die meisten Infektionserreger aufweisen, ist das nicht im geringsten verwunderlich.

Nach 24 Stunden wird der Hund durch Gasembolie getötet und mit dem Herzblut, Stückchen der Milz und des Knochenmarks, der Pulpa von 5 Schneidezähnen und der 4 Eckzähne werden Kulturen in Agar und Bouillon angelegt.

Sämtliche Kulturen blieben negativ.

Hund No. 2, Bastard von mittlerer Größe.

Angesichts des bei der Einimpfung eines wenig virulenten Stammes erhaltenen Mißerfolges verschaffte ich mir einen stärker pathogenen. Es handelte sich um einen frisch aus einem dicken Favus isolierten, gut chromogenen, typische Trauben bildenden Staphylococcus, der die Gelatine aktiv verflüssigte und die Milch koagulierte.

Ca. 3 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur wurden durch die Randvene des Ohres injiziert. Eine Blutentnahme 6—7 Stunden nach der Einimpfung zeigte, daß der Keim noch im Blute zirkulierte.

Der Hund wurde 16 Stunden nach der Einimpfung durch Gasembolie getötet.

Sektion wie gewöhnlich. Resultat der Kulturen:

Blut		1 Bouillonröhre			Kultur negativ
„		1 Agarröhre			„ „
Milz		1 Bouillonröhre			„ positiv
Knochenmark		1 „			„ „
„		2 Agarröhren			1 Kolonie und Kultur im Kondenswasser nur in einer der 2 Röhren
Pulpa des Eckzahnes	OL		1	Agarröhre	Kultur im Kondenswasser
„ „ „	OR		1	„	„ negativ
„ „ „	UL		1	„	7 Kolonieen und Kultur im Kondenswasser
„ „ „	UR		1	„	Kultur negativ
„ „ Schneidezahnes	UL		1	„	„ „
„ „ „	UR		1	„	„ „

Daraus ergibt sich, daß der Staphylococcus pyogenes aureus, auf dem Blutwege eingeführt, sich auch in der Zahnpulpa des Hundes lokalisieren und eine Zeitlang nach dem Verschwinden aus dem Blute darin verweilen kann, was auch in anderen Organen, namentlich in der Milz und dem Knochenmark, der Fall ist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hund No. 3, Bastard von mittlerer Größe.

Er wird intravenös mit einer Sporenaufschwemmung von B. clavatus (3 ccm) geimpft. Nach 48 Stunden wird er durch Gasembolie getötet.

Die Kulturen werden sämtlich in Bouillonröhren angelegt, die nach der Einsaat gekocht werden.

Resultate der Kulturen:

Blut	1 Bouillonröhre		Kultur negativ
Milz	1 „		„ positiv
Knochenmark	3 Bouillonröhren		„ „ in allen
Pulpa des rechten oberen Eckzahnes		1 Bouillonröhre	„ positiv
„ „ „ unteren „		1 „	„ „
„ „ linken oberen „		1 „	„ „
„ „ rechten „ „		1 „	„ negativ
„ von 2 Schneidezähnen		2 Bouillonröhren	„ „

Auch beim B. clavatus ist somit die Anwesenheit und das Verweilen in der Zahnpulpa nach dem Verschwinden des Keimes aus dem Blutkreislauf möglich.

Die Resultate der Untersuchungen an den Meerschweinchen und besonders an den Hunden tun die Möglichkeit einer Infektion der Zahnpulpa auf dem Wege durch die Blutbahn dar. Wenn Mikroorganismen im allgemeinen Kreislauf vorhanden sind, gehen sie nicht nur mit den Blutmassen durch die Zahnpulpa hindurch, sondern können auch darin verweilen, wahrscheinlich infolge der cytophagären Wirkung der fixen Pulpazellen oder hinzueilender beweglicher Zellen.

Indes ist es evident, daß, während in normalen Verhältnissen das Los dieser Mikroben fast konstant ihre mehr oder minder rasche Vernichtung sein wird, in pathologischen Verhältnissen infolge äußerer Einwirkungen, durch die die Vitalität der Pulpa herabgesetzt wird, die Mikroben größere Wahrscheinlichkeit haben werden, zu überleben und über die Abwehrkräfte des Körpers den Sieg davonzutragen.

Ist doch ein fundamentaler Satz der Pathologie der, daß an jeder Körperstelle, die traumatisiert oder irgendwie ihrer Widerstandskraft beraubt wird, die Mikroben größere Wahrscheinlichkeit haben, sich zu lokalisieren. Die Pleuropneumonieen, Mastitiden, Osteomyelitiden, traumatischen Arthritiden und viele andere chirurgische Krankheiten sind der beste Beweis für diese Möglichkeit, die keines weiteren Nachweises bedarf.

Die traumatisierte Zahnpulpa ist sonach mehr als die gesunde Zahnpulpa den Mikrobenangriffen auf dem Wege durch den allgemeinen Kreislauf unterworfen.

Während sich jedoch diese Lokalisationen während des Verlaufes von Infektionskrankheiten leicht erklären lassen, dürften sie unter normalen Verhältnissen weniger begreiflich erscheinen.

Immerhin wissen wir durch die Arbeiten von Ravenel[1]), Ficker[2]), Hilgermann[3]), Roger und Garnier[4]), Tchitchkine[5]), Holle[6]), Herman[7]), Vasaroff[8]), Altana[9]) und vielen anderen heute mit

1) Ravenel, Journ. of med. Research. 1903.
2) Ficker, Arch. f. Hyg. Bd. 52 u. 54.
3) Hilgermann, Arch. f. Hyg. Bd. 54.
4) Roger et Garnier, Compt. rend. Soc. de Biol. 1906.
5) Tchitchkine, Ann. Inst. Pasteur. 1906.
6) Holle, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. 1907.
7) Herman, Bull. Acad. Roy. méd. de Belgique. T. 21. 1907.
8) Vasaroff, Etudes critiques et expérimentales sur la question de la perméabilité de la paroi intestinale pour les microbes. [Thèse.] 1908.
9) Altana, Riv. d'Ig. e Sanità pubbl. Vol. 19. 1908.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bestimmtheit, daß sehr oft die Mikroben durch die Schleimhäute hindurchgehen und in den allgemeinen Kreislauf einbrechen können. Es handelt sich im allgemeinen um einfache Bakteriämieen ohne pathologischen Charakter und ohne septikämische Physiognomie, die bald verschwinden. Das kann unter vollkommen normalen Verhältnissen und unter dem Einfluß von banalen Ursachen, wie Hunger, Anstrengung, Erkältung, leichten Darmstörungen usw. vorkommen.

Wenn aber in der Zeit, wo sich die Mikroben im Kreislauf befinden, eine Zirkulations- oder Ernährungsstörung in irgendeinem Teil des Organismus hinzukommt, so ist es leicht begreiflich, daß sich an dem Locus minoris resistentiae Keime festsetzen und zur Entwickelung eines lokalen, entzündlichen Prozesses führen können.

Schlüsse.

1) Die im Blutstrom zirkulierenden Mikroben können sich in der normalen Zahnpulpa festsetzen.

2) Ihr Verweilen in der Pulpa kann, je nach den Mikrobenarten und den einzelnen Fällen, eine gewisse Zeit auch nach dem Verschwinden der Keime selber aus dem Kreislauf andauern.

3) In der Pulpa der Zähne mit geschlossener Wurzel (Hund) verbleiben die Mikroben nahezu eben so lange wie in den lymphoiden Organen (Milz und Knochenmark).

4) Die zirkulierenden Mikroben haben für die Pulpa der kontinuierlich wachsenden Zähne (Meerschweinchen) meist eine größere Elektivität als für die lymphoiden Organe.

5) In der Zahnpulpa der Meerschweinchen können sich auch in vollkommen normalen Verhältnissen saprophytische oder dort saprophytisch gewordene Mikroben finden.

6) Es ist anzunehmen, daß — wenigstens in gewissen Fällen — das spontane Absterben der Pulpa mit einer auf dem Blutwege erfolgten Infektion in Zusammenhang steht.

7) Die entzündlichen Erscheinungen, die häufig in einer seit langer Zeit abgestorbenen Pulpa auftreten, sind wahrscheinlich als Bakterienlokalisationen aufzufassen, die sekundär auf dem Blutwege an einem Locus minoris resistentiae erfolgt sind.

Literaturverzeichnis.

Arkovy, Diagnostik der Zahnkrankheiten. Stuttgart 1885.
—, Ueber Bacillus gangraenae pulpae. (Oest.-Ung. V. f. Z. 1909. Fasc. 2.)
—, Bemerkungen über die klinische Pathologie der Pulpakrankheiten. (Oest.-Ung. V. f. Z. 1902. p. 494.)
—, Experimentelle Untersuchungen über Gangrän an der Zahnpulpa und Wundgangrän. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 23. H. 21.)
Boggio, La gangrena della polpa dentaria. [Tesi di Docenza.] Biella 1913.
Cook, Bacteriological Investigation of Pulp's gangren. (The Dental Review. 1899.)
Galippe e Vignal, Notes sur les microorganismes de la carie dentaire. (Compt. rend. hébdom. Séances de la Société de Biol. 1889. No. 11.)
Mayrhofer u. Ballner, Bakteriologische Nachprüfung der zahnärztlichen Therapie der Pulpagangrän. (Wien. klin. Wochenschr. 1908. No. 17.)
Miller, Microorganismi della bocca. Milano 1905.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Miller, Anleitung zum Studium der Bakteriopathologie der Zahnpulpa. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 16. 1894.
—, Die Bakteriopathologie der Zahnpulpa. (Klin. Zeitschr. 1894. p. 62.)
—, Infektion der kranken und nekrotischen Pulpa auf dem Wege der Blutbahn. (Oest.-Ung. V. f. Z. 1889.)
Monnier, Contribution à l'étude patholog. d. infect. dentaire. [Thèse de Paris.] 1904.
Rodella, Einiges zur Technik der bakteriologischen Untersuchung der Mundhöhle. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 37.)
—, Ueber anaërobe Mundbakterien und ihre Bedeutung. (Arch. f. Hyg. Bd. 53.)
Rovida, Contributo all' etiogenesi parassitaria della polpite cancrenosa. Sulla presenza di spirilli nel tessuto della polpa dentale. (La Stomatologia. Vol. 11. Gennaio 1913.)
Sieberth, Die Mikroorganismen der kranken Zahnpulpa. [Inaug.-Diss.] Erlangen 1900.
Veillon, Sur un microcoque strictement anaérobe trouvé dans des suppurations fétides. (Soc. de Biol. 1893.)
— et Zuber, Recherches sur quelques microbes strict. anaérobes. (Arch. de méd. expér. 1898.
Zierler, Bakteriologische Untersuchungen über Gangrän der Zahnpulpa. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 26.)

Nachdruck verboten.

Hämogregarinen der Seefische.

[Aus der zoologischen Station zu Neapel.]

Von **Nina Kohl-Yakimoff (†)** und **W. L. Yakimoff,** St. Petersburg.

Mit 4 Tafeln.

Außer Trypanosomen fanden wir bei Fischen des Meerbusens von Neapel auch noch Hämogregarinen. Sie kamen bei folgenden Arten vor: Gobius capito, G. jozo, G. aurantus, G. cruentatus, G. paganellus, Torpedo marmorata, Solea lutea und Blennius trigloides.

I. Literatur über Hämogregarinen der Seefische.

Unzweifelhaft waren Laveran und Mesnil die ersten, welche Hämogregarinen im Blute von Seefischen sahen. In ihrer ersten Mitteilung berichten sie über 2 von ihnen bei Seefischen gefundene Arten dieser Parasiten, Haemogregarina Simondi und H. bigemina.

Später fanden dieselben Autoren zu Roscoff und in der Bucht von St. Martin eine Hämogregarine bei Raja punctata und Raja mosaica; sie nannten dieselbe Haemogregarina Delagei.

Lebailly konnte zu Luc-sur-Mer einige neue Hämogregarinenarten (Haemogregarina platessae bei Platessa vulgaris) nachweisen.

Robertson sah in Milport bei Pleuronectes platessa eine Hämogregarine, die sie mit der von Lebailly nachgewiesenen identisch hält.

Haemogregarina flesi bei Flesus vulgaris erinnert an Haemogregarina platessae.

Robertson beobachtete außerdem bei Pleuronectes flesus eine Hämogregarine, welche sie für mit der oben beschriebenen identisch hält; bei Platophrys laterna konstatierte sie die Haemogregarina laternae.

Derselbe Autor stellte in Gemeinschaft mit Brumpt im Laboratorium zu Roscoff und Luc-sur-Mer Untersuchungen an und konnte hierbei folgende Hämogregarinenarten nachweisen: Haemogregarina Blanchardi bei Gobius niger, Haemogregarina callionymi bei Callionymus dracunculus, Haemogregarina cotti bei Cottus bubalus, Haemogregarina quadrigemina bei Callionymus dracunculus und Haemogregarina gobii bei Gobius niger.

Neumann, welcher vor uns auf der zoologischen Station zu Neapel diesbezügliche Forschungen angestellt hat, beschreibt in genauer und umfassender Weise die Hämogregarinen, welche er in Fischen des Meerbusens von Neapel konstatieren konnte. Die von ihm beschriebenen Arten sind folgende:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Haemogregarina polypartita fand sich bei Gobius paganellus in 78 Proz. sämtlicher untersuchten Fische dieses Meerbusens. Bei dieser Art konstatierte Neumann zum ersten Male, daß in einem Erythrocyten 16 Parasiten und nur als kleine Formen (Merozoiten, während, nach den Tafeln zu urteilen, bei Haemogregarina bigeminum, H. quadrigeminum und H. Simondi ausschließlich Gameten vorkommen) enthalten waren; mehr als 16 Merozoiten kann der Erythrocyt nicht fassen, und deshalb findet keine weitere Teilung statt. Die Länge der größten freien Gameten beträgt 20 μ bei einer Breite von 2 μ in dem dicksten Teile des Kolbens; die kleinsten Formen weisen einen Durchmesser von 12 μ × 1,5 μ auf; die Merozoiten aber sind im reifen Zustande 4 μ lang und 1 μ breit.

Haemogregarina minuta fand sich bei Gobius minutus. Verf. meint, daß sie mit der von Brumpt und Lebailly entdeckten Haemogregarina gobii nicht identisch ist, verneint jedoch eine gewisse Aehnlichkeit mit Haemogregarina quadrigemina derselben Autoren nicht.

Haemogregarina clavata kommt bei Solea lutea vor. Ihre Gameten gehören zu den größten gegenwärtig bekannten; sie messen 32 μ in der Länge und 2,5 μ in der Breite; ihr Durchschnittsmaß beträgt 25—26 μ. Nicht selten sieht man Parasiten in Knoten- oder Fächerform, was an Haemogregarina Simondi erinnert.

Haemogregarina torpedinis fand sich beim Torpedofische. Ein charakteristisches Merkmal dieser Parasiten besteht darin, daß in jedem Erythrocyten nur je ein Individuum enthalten ist. Die Länge der größten weiblichen Gameten beträgt 18 μ bei einer Breite von 4,5 μ an der weitesten Stelle; erwachsene männliche Gameten sind 15—17 μ lang und 1,5 μ breit; dieselben Maße junger Gameten betragen 6 μ × 2,5 μ.

Haemogregarina scorpaenae kommt bei Scorpaena scrota vor. Verf. sah nur Gameten. In den meisten Fällen liegen sie frei stets je 4 an der Zahl. Die Länge der erwachsenen Parasiten beträgt 17 μ bei einer Breite von 1,5 μ. Diese Hämogregarine nähert sich nach Angaben des Verf. eher der Haemogregarina quadrigemina von Brumpt und Lebailly.

II. Eigene Beobachtungen.

1. Hämogregarine des Blutes von Gobius capito.

Von 5 vorhandenen Exemplaren dieser Fischart fanden sich Hämogregarinen bei 3. Dank diesem und auch jenem Umstande, daß wir noch 2 weitere Exemplare von Gobius capito mit dieser Hämogregarine infizieren konnten, stand uns ein genügendes Material zur Verfügung, weshalb das Studium dieser Hämogregarine von uns vollständiger durchgeführt werden konnte, als wie bei den übrigen.

Die Blutausstrichpräparate wurden in gleicher Weise bearbeitet, wie das für Trypanosomen üblich ist: Fixation mit absolutem Methylalkohol und Färbung mit Lösungen nach Giemsa oder Leishman.

a) Morphologie der Hämogregarine.

Die Parasiten konnten in zweierlei Abarten beobachtet werden.

Die erste Art lebt frei (Taf. I, Fig. 1) oder häufiger in Erythrocyten eingeschlossen (Taf. I, Fig. 2—11). Dieses sind kleine, kurze und dicke Organismen mit abgerundeten Enden, blaufarbigem Protoplasma und rotem Kerne. Ihre Anzahl in einem jeden Erythrocyten beträgt 1, 2, 4 und 8. Das Protoplasma ist locker, enthält helle Vakuolen mit undeutlichen Umrissen. Der Kern befindet sich am häufigsten im Zentrum oder auch näher einem der Enden; er ist nicht kompakt, sondern besteht aus einer zusammengeballten, lockeren Masse oder stellt eine Art Netz oder sternförmige Figuren dar, wobei zuweilen im Dickicht der Chromatinfäden intensiver gefärbte Körner (Kernkörperchen?) zu sehen sind. Sehr häufig finden sich an einem Ende des Parasiten 1 oder 2 intensiver gefärbte Körnchen, welche wir als Centrosomen ansehen (hierbei sei erwähnt, daß Neumann bei Haemogregarina polypartita eine von diesem Körnchen ausgehende Geißel sah). In der Mehrzahl der Fälle ist dieses Körnchen von einer hellen, farblosen Zone umgeben. Wir sahen niemals, daß der Kern oder das Protoplasma des

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den Parasiten beherbergenden Erythrocyten irgendwie gelitten hätten, nur bei einer Anzahl von 8 Parasiten im Erythrocyten ist sein Protoplasma ein wenig in die Länge gezogen.

Wir haben Messungen mehrerer von diesen Parasiten vorgenommen; das Ergebnis derselben war folgendes:

Anzahl der Parasiten in einem Erythrocyten	Maße der Parasiten		Maße des Kernes	
	Länge	Breite	Länge	Breite
1	4,97 μ	3,55 μ	1,42 μ	1,42 μ
	6,13 „	1,42 „		
	7,10 „	2,84 „		
	4,61 „	2,84 „	1,42 „	2,84 „
	5,68 „	2,84 „	2,84 „	2,84 „
2	6,39 μ	3,55 μ	1,42 μ	3,55 μ
	4,26 „	2,84 „	2,48 „	1,42 „
	4,97 „	1,77 „	2,13 „	1,42 „
4	4,26 μ	2,13 μ	1,42 μ	2,13 μ
8	4,26 μ	2,84 μ	2,13 μ	2,84 μ
	3,55 „	1,42 „	2,13 „	1,42 „

Die roten Blutkörperchen von Gobius capito messen 13 $\mu \times 9$ —9,9 μ.

Aus der Tabelle ersieht man, daß im allgemeinen die Dimensionen der Parasiten um so geringer sind, je größer deren Anzahl in einem jeden Erythrocyten ist.

Parasiten dieser Art stellen Merozoiten dar.

Die zweite Art bilden Gameten (Taf. I, Fig. 13—21). Dieses sind lange, dünne, mehr oder weniger gebogene Organismen; das eine Ende derselben ist dicker, als wie das andere; jenes ist stets abgerundet, während dieses entweder abgerundet oder zugespitzt ist. Ihr Protoplasma färbt sich blau und ist bald locker, bald wieder kompakt. Der Kern findet entweder im Zentrum des Organismus oder einem seiner Enden etwas näher (ausschließlich dem dünnen) Platz; er nimmt rote Färbung an und ist auch, wie bei den Schizonten, in den meisten Fällen nicht kompakt, sondern locker.

Weiter findet man bei fast allen Exemplaren an einem der Enden (vornehmlich dem dünnen) ein Körnchen, welches intensivere Färbung annimmt, als der Kern; dieses Körnchen ist aller Wahrscheinlichkeit nach ein Centrosoma. Zuweilen jedoch gewahrt man am dünnen Ende statt dieses Gebildes einige kleine, rotviolett gefärbte, undeutlich konturierte Massen.

Da die Gameten geschlechtliche Formen darstellen, so kann man unter ihnen männliche und weibliche Individuen unterscheiden.

Als männliche (Taf. I, Fig. 17, 18, 19, 20 u. 21) muß man aller Wahrscheinlichkeit nach die dünneren Formen, welche einen Kern im Zentrum oder beinahe im Zentrum und außerdem ein Centrosoma aufweisen, ansehen.

Für weibliche (Taf. I, Fig. 14 u. 15) halten wir dickere Organismen mit an das dünnere Ende verschobenem Kern und mit einem rosafarbenen, kolbenförmig aufgetriebenen Teile des Protoplasmas, während der übrige Teil des letzteren sich blau färbt.

Die Anzahl der Gameten in einem Erythrocyten beträgt 1, 2, 4 und 8.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das Protoplasma und der Kern des den Parasiten beherbergenden Erythrocyten leidet unter Einwirkung der in ihm befindlichen Gameten oder auch nicht, was von der Anzahl der letzteren abhängt. Finden sich in ihm 1 oder 2 Gameten, so beobachtet man gar keine Veränderungen im Erythrocyten, sind ihrer 4 an der Zahl, so wird der Kern ein wenig zur Seite geschoben; bei 8 Gameten aber ist der Erythocyt entweder stark in die Länge gezogen oder man gewahrt überhaupt kein Protoplasma und der Kern ist mehr oder weniger verunstaltet.

Die Größe der Gameten ist folgende:

Anzahl der Parasiten im Erythrocyten	Maße des Parasiten		Maße des Kernes	
	Länge	Breite	Länge	Breite
1	10,64 μ	1,77 μ	1,42 μ	1,42 μ
2	9,94 μ	1,77 μ	2,84 μ	1,77 μ
	9,94 „	2,84 „	2,84 „	2,13 „
	14,20 „	1,77 „	2,84 „	1,77 „
	5,68 „	1,42 „	2,84 „	1,42 „
	11,36 „	1,42 „		
	11,36 „	1,42 „		
4	9,23 μ	1,42 μ	—	—
	9,94 „	1,77 „	—	—
	8,25 „	1,42 „	—	—
	8,25 „	1,42 „	—	—

b) Entwickelung der Hämogregarinen.

Die Entwickelung unserer Hämogregarine stellen wir uns auf Grund des Studiums der von uns beobachteten Formen in folgender Weise vor:

Der im Blutplasma frei herumschwimmende Schizont (Taf. I, Fig. 1a und b) dringt in den Erythrocyten ein (Taf. I, Fig. 2 und 3) und beginnt sich durch Schizogonie zu vermehren. Möglich ist auch die Teilung eines freien Schizonten; wir sahen einen solchen Parasiten mit 2, freilich noch nicht ganz ausgebildeten Kernmaßen (Taf. I, Fig. 1c). Die Teilung findet in der Weise statt, daß der Schizont zu Anfang ein wenig umfangreicher wird. Sodann kommt es zu einer Bewegung der Chromatinpartikeln, dank welcher der Kern seine kompakte Struktur einbüßt (Taf. I, Fig. 5) und das Chromatin in ihm sich lockert; hierauf teilt sich der Kern und das Centrosoma in 2 Teile (Taf. I, Fig. 6). Wer sich früher teilt, ob Kern oder Centrosoma, konnten wir nicht mit Bestimmtheit feststellen; man kann jedoch nach Analogie mit anderen Blutparasiten annehmen, daß sich das Centrosoma früher teilt. Weiter ballen sich die beiden vereinzelten Kernklümpchen zusammen und das Protoplasma teilt sich in 2 Hälften (Taf. I, Fig. 7); es bilden sich 2 Merozoiten, welche zu Anfang zusammenhängen (Taf. I, Fig. 8), später sich aber trennen (Taf. I, Fig. 9).

Von den auf diese Weise entstandenen 2 Schizonten kann sich ein jeder wiederum genau ebenso in 2 Teile teilen, und dann ergeben sich 4 Schizonten (Taf. I, Fig. 10). Einmal sehen wir einen Schizonten mit 2 Kernen, dessen Protoplasma sich jedoch noch nicht vollständig geteilt hatte (Taf. I, Fig. 7) während das Centrosoma der einen Hälfte bereits Zweiteilung erfahren hatte. Dieses ist sozusagen eine beschleunigte Teilung.

Schließlich können sich auch diese 4 Merozoiten teilen und lassen dann 8 hervorgehen (Taf. I, Fig. 11). Wie hier die Teilung stattfindet,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

konnten wir nicht konsekutiv verfolgen. Vielleicht teilt sich ein jeder der 4 Schizonten unabhängig von den anderen in 2 Teile. Wir sahen jedoch einen interessanten Fall von Teilung in 8 Schizonten (Taf. I, Fig. 12). Der einzige im Erythrocyten vorhandene Schizont befindet sich auf dem Wege zur Zweiteilung; sein Kern ist bereits geteilt, sein Protoplasma jedoch noch nicht ganz; sodann ist einer der beiden Kerne deutlich in 4 kleine Klümpchen geteilt, ebenso besteht auch das Centrosoma aus 4 Teilen, in dem anderen Kerne sieht man bereits Bewegungen im Chromatin.

Dieser Art ist die ungeschlechtliche Vermehrung (Schizogonie) unserer Hämogregarine.

Anstatt der geschlechtlosen Formen können sich jedoch geschlechtliche Gameten bilden (Taf. I, Fig. 13—21). Dieses findet wahrscheinlich in der Weise statt, daß die Parasiten (gleichviel in welcher Anzahl) sich verdünnen und in die Länge ziehen (Taf. I, Fig. 17, 18, 19, 20 und 21), wobei sie sich zuweilen etwas krümmen müssen (stark gekrümmte Hämogregarinen sahen wir nicht). Möglich ist übrigens auch eine selbständige Teilung der Gameten; in Fig. 13 sehen wir, daß ein Merozoit sich in einen Gameten verwandelt, ein anderer aber sich in 2 Teile geteilt hat, wobei von letzteren wiederum einer gleichfalls Zweiteilung erlitten hat, der andere aber sich auf dem Wege hierzu befindet.

Die Lagerung der Gameten im Erythrocyten kann eine verschiedene sein; bald liegen sie alle nach der einen Seite vom Kerne (Taf. I, Fig. 17 und 19), bald zu beiden (Taf. I, Fig. 18), oder sogar nach 4 Seiten (Taf. I, Fig. 20) in verschiedener Quantität. Sind ihrer jedoch 8 im Erythrocyten vorhanden (Taf. I, Fig. 21), so liegen sie alle in Unordnung und untereinander verwirrt da.

Ob die Gameten aus den Erythrocyten auswandern und ins Blut gelangen, wissen wir nicht, da wir diese Formen frei im Blutplasma herumschwimmend nicht konstatieren konnten. Die Schizonten dagegen wandern unzweifelhaft in letzteres aus, um dann nach Verlauf eines gewissen Zeitraumes wieder in den Erythrocyten einzudringen.

c) Infektionsversuche.

Ist die von uns gefundene Hämogregarine für Gobius capito spezifisch, oder kann sie auch andere Fischarten, welche diesem zoologisch nahestehen, infizieren?

Um diese Frage zu entscheiden, infizierten wir folgende Fische mit dem Blute eines Gobius capito intraperitoneal: 3 Gobius paganellus, 3 Blennius ocellaris, 1 Blennius trigloides, 3 Sargus annularis, 3 Motella tricirrata, 1 Conger vulgaris, 1 Sarranus cabrilla, 1 Scyllium stellare und noch 2 Gobius capito.

Beide Gobius capito wurden mit Erfolg infiziert. Was jedoch die übrigen Fische anbetrifft, so ergab die lange Zeit über wiederholte Untersuchung ihres Blutes stets ein negatives Resultat.

d) Stellung der Hämogregarine von Gobius capito unter den übrigen Hämogregarinen von Seefischen.

Welche Stellung nimmt die von uns entdeckte Hämogregarine unter den übrigen Hämogregarinen von Seefischen ein? Stellt sie eine schon früher bekannte Art dar, oder ist sie eine neue Art?

Zweifellos haben wir es hier mit einer neuen Hämogregarinenart zu tun.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aus der oben angeführten Literaturübersicht geht hervor, daß die meisten Hämogregarinen von Seefischen in der Zahl von nicht über 4 in den Erythrocyten enthalten sind, und daß nur bei 2 Hämogregarinenarten, nämlich Haemogregarina Simondi Laveran et Mesnil aus Solea vulgaris und Haemogregarina polypartita Neumann aus Gobius paganellus diese Zahl 4 übersteigt. Der erste Parasit findet sich in der Zahl von 8, der zweite von 16 Individuen in jedem Erythrocyten (in dieser Quantität kommen jedoch nur Merozoiten vor, von Gameten fand dagegen Neumann nicht über 4).

Unsere Hämogregarine unterscheidet sich sowohl von dem einen, als auch von dem anderen Parasiten. Von der Haemogregarina polypartita bildet die Anzahl von Merozoiten im Erythrocyten folgenden Unterschied: Bei Neumann waren ihrer 16, wir sahen jedoch nie über 8. Während nun aber die Haemogregarina polypartita 4 Gameten hat, zählte unsere Hämogregarine deren 8.

Was nun die Haemogregarina Simondi Laveran et Mesnil anbetrifft, so braucht man nur an den Modus der Teilung, welcher weniger kompliziert ist, als bei unserem Parasiten, zu denken. Unsere Hämogregarine teilt sich konsekutiv in 2, 4 und 8 Individuen, während bei der Haemogregarina Simondi der Parasit, nachdem er in den Erythrocyten vorgedrungen ist, Kugelform annimmt und das ganze Blutkörperchen ausfüllt, wonach sich der Kern in 2, 4 und 8 Teile teilt und dann erst die Teilung des Protoplasmas stattfindet; als Endresultat ergibt sich dann ein Büschel von Hämogregarinen, welche anfangs an einer dünnen Membran haften, später aber auseinandergehen.

Weiter haben die Autoren (Laveran und Mesnil und Lebailly), welche die Haemogregarina Simondi beobachteten, ausschließlich Gameten (sowohl in den Erythrocyten, als auch im freien Zustande) konstatieren können. Wir jedoch konnten nicht nur Gameten, sondern auch Merozoiten, letztere sogar im freien Zustande, beobachten.

Außerdem weist die Haemogregarina Simondi ein Merkmal auf, welches Lebailly als für diesen Parasiten charakteristisch ansieht; sie besitzt „un petit mamellon, regulièrement sphérique, surmontant l'extrémité en forme de massue". Nichts dem Aehnliches findet sich aber bei unserer Hämogregarine.

Es erhellt also hieraus, daß die Hämogregarine im Blute von Gobius capito eine neue Art darstellt.

In der Sitzung der mikrobiologischen Gesellschaft zu St. Petersburg im Mai 1910, wo über diese Hämogregarine vorgetragen wurde, schlug Dr. A. A. Wladimirow vor, sie als Haemogregarina Yakimowi-Kohl zu bezeichnen.

2. Hämogregarine des Blutes von Gobius cruentatus.

Diese Hämogregarine (Taf. II, Fig. 1—11) zeichnet sich durch die maximale Anzahl der in einem Erythrocyten enthaltenen Merozoiten und Gameten aus. Wir sahen Merozoiten in einer Anzahl von 1, 2, 4, 8 und 16 (Taf. II, Fig. 1, 2, 3, 4, 5 u. 6).

Ebensolche Mengen fand Neumann bei Haemogregarina polypartita. Jedoch unterscheidet sich die von uns gefundene Hämogregarine von derjenigen dieses Autors durch die Zahl der Gameten: während Neumann bei der Haemogregarina polypartita höchstens 4 Gameten sah, fanden wir deren bei Gobius cruentatus 8 und 16 (Taf. II, Fig. 10 und 11). Es ist dies der erste Fall, wo 16 Gameten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

beobachtet wurden. 8 Gameten gibt es, wie wir sahen, bei Haemogregarina Simondi und bei Haemogregarina Yakimowi-Kohl.

Außer der exklusiven Menge von Gameten sahen wir noch eine ungerade Zahl der Parasiten; dieses waren jedoch Formen, welche im Beginn des Teilungsprozesses standen.

Die Gestalt der Gameten sowie auch der Merozoiten ist die gewöhnliche, und zwar dieselbe, wie sie auch bei den übrigen Hämogregarinen bekannt ist. Das Protoplasma nimmt blaue, die Kerne rote Färbung an. Bei beiden Arten findet sich ein Centrosoma (das bei den Merozoiten im dünnen, bei den Gameten aber meist im dicken Ende liegt).

Die Anzahl der Gameten beträgt 2 (zuweilen 3), 4, 8 und 16 (Taf. II, Fig. 7—11).

Die Vermehrung findet mittels Teilung eines jeden Individuums in 2 statt.

Freischwimmende Parasiten sahen wir nicht.

Die den Parasiten beherbergenden Zellen leiden durch die Gegenwart der Merozoiten, selbst wenn ihrer 16 sind, gar nicht. Was jedoch die Gameten anbetrifft, so kann ein Erythrocyt deren ungestraft nur 4 beherbergen (Taf. II, Fig. 9); bei 8 (Taf. II, Fig. 10) und 16 Gameten hingegen ist er in die Länge gezogen, und zwar besonders stark, wenn er deren 16 (Taf. II, Fig. 11) enthält, obgleich der Kern hierbei selten verunstaltet, ja selbst nicht immer an den Rand des Erythrocyten verschoben wird.

Die Maße der Merozoiten und der Gameten sind in folgender Tabelle angegeben:

	Anzahl der Parasiten in einem Erythrocyten	Ganzer Parasit		Kern	
		Länge	Breite	Länge	Breite
Merozoiten	1	5,68 μ	4,26 μ	2,84 μ	1,77 μ
	2 in Teilung begriffene	4,26 „	2,84 „	2,84 „	2,84 „
		4,97 „	2,84 „	2,84 „	2,84 „
		5,68 „	2,84 „	2,84 „	1,42 „
	4	4,97 „	2,84 „	2,84 „	2,13 „
	8	4,26 „	2,13 „	3,55 „	1,20 „
		2,84 „	2,13 „	1,42 „	1,42 „
Gameten	2	9,94 μ	2,13 μ	2,84 μ	2,13 μ
	4	7,10 „	1,42 „	2,84 „	1,42 „
	8	8,25 „	1,42 „	2,84 „	1,42 „
	16	11,36 „	1,42 „	2,84 „	1,42 „

Die Maße der Erythrocyten von Gobius cruentatus betragen 14,2 × 9,9 μ.

Zweifellos unterscheidet sich diese Hämogregarine schon allein durch die Zahl von Gameten (16) von sämtlichen zurzeit bekannten und stellt deshalb eine neue Art dar.

Wir schlagen vor, dieselbe zu Ehren von Dr. A. A. Wladimirow, des Leiters der epizootologischen Abteilung des Institutes für experimentelle Medizin zu St. Petersburg, als **Haemogregarina Wladimirovi** zu bezeichnen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3. Hämogregarine des Blutes von Gobius aurantus.

Bei dieser Hämogregarine (Taf. III, Fig. 1—13) sahen wir sowohl Merozoiten, als auch Gameten.

Merozoiten (Taf. III, Fig. 1—6) waren in der Zahl von 1 (Taf. III, Fig. 1), 2 (Taf. III, Fig. 2—5) und 6 (Taf. III, Fig. 6) vertreten. Letztere Zahl ist sehr sonderbar; es ist jedoch leicht möglich, daß wir eine nicht ganz vollendete Teilung der Parasiten vor uns hatten und daß in diesem Erythrocyten mit der Zeit 8 Merozoiten enthalten wären. 4 Merozoiten konnten wir nicht ausfindig machen, obgleich wir glauben, daß diese Anzahl vorkommt, da wir den Beginn der Kernteilung bei 2 in 1 Erythrocyten enthaltenen Merozoiten beobachten konnten (Taf. III, Fig. 3).

Das eine Ende des Merozoiten ist stets breiter und abgerundet, während das andere dünn und schmal ist. Der Kern zeigt bald eine runde Form, bald mehr oder weniger kompakten Bau, bald wieder besteht er aus vereinzelten Elementen von verschiedenster Form (Pünktchen, Stäbchen, Zacken, Vierecken usw.). Er ist stets mehr oder weniger rot gefärbt; das Protoplasma dagegen zeigt Blaufärbung. Fast stets findet sich ein kleines, dunkel gefärbtes Chromatinkörnchen (Centrosoma?).

Die Maße der Merozoiten sind folgende:

Anzahl der Merozoiten in einem Erythrocyten	Ganzer Parasit		Kern	
	Länge	Breite	Länge	Breite
1	5,68 μ	2,84 μ	2,84 μ	2,84 μ
2	4,26 μ 5,68 „	2,84 μ 2,84 „	2,84 μ 2,84 „	2,13 μ 2,48 „
6	6,39 μ 4,26 „	1,77 μ 1,42 „	1,42 μ 1,42 „	1,42 μ 1,42 „

Die Maße der Erythrocyten von Gobius aurantus betragen 12,7 × 8,1 μ.

Gameten (Taf. III, Fig. 7—13) kamen in der Anzahl von 2 (Taf. III, Fig. 7, 8) und 4 (Taf. III, Fig. 12 u. 13) vor. Zweimal sahen wir je 3 Gameten in 1 Erythrocyten (Taf. III, Fig. 9, 10).

Das eine Ende des Organismus ist keulenförmig aufgetrieben, das andere verdünnt. Es ist ein dunkel gefärbter Chromatinpunkt zu beobachten. Zuweilen jedoch kommt außer diesem an dem anderen Ende ein Konglomerat von undeutlich konturierten Flecken vor.

Maße der Gameten: Länge 9,94—11,36 μ, Breite 1,42—2,84 μ (Kern: 2,84—3,55 μ lang und 1,42—2,84 μ breit).

Außer diesen typischen Gameten sahen wir noch Formen, welche denjenigen ähnlich sind, die Neumann bei der Haemogregarina polypartita sah und die er als „Mittelformen" bezeichnet (Taf. III, Fig. 11). Ihre Länge ist geringer als bei typischen Gameten, ihre Breite dagegen bedeutender. Die beiden Enden ähneln einander und ist hier das kolbenförmig aufgetriebene und das zugespitzte noch nicht zu unterscheiden. Wahrscheinlich sind es junge Gameten, die sich noch auf dem Wege zu ihrer endgültigen Ausbildung befinden.

Sodann finden sich sehr häufig in großer Anzahl freischwimmende und die Erythrocyten verlassende Gameten (Taf. III, Fig. 12 u. 13). Ihr Bau ist fast genau derselbe, wie bei eingeschlossenen Gameten, jedoch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ist ihre Länge bedeutender (12,07—13,49 μ, Breite 1,42—2,84 μ; der Kern ist 1,42—4,26 μ lang und 1,42 μ breit). Die Zellen, welche vordem ins Blutplasma ausgewanderte Gameten enthielten, sind im Gegensatz zu dem, was wir bei eingeschlossenen Gameten beobachten konnten, verändert; sie sind erweitert (da die Gameten an Größe zugenommen haben), ihr Kern wird undeutlich und verändert seine violette Färbung in eine rote. Auf Taf. III, Fig. 12 sind 4 freie Gameten, welche sich neben einem noch vorhandenen, obgleich bereits undeutlich wahrnehmbarem Kern befinden, abgebildet, während das Protoplasma bereits ganz und gar aufgelöst ist.

Wir schlagen vor, diese Hämogregarine zu Ehren unseres Freundes, Dr. O. O. Hartochs, **Haemogregarina Hartochi** zu benennen.

4. Hämogregarine des Blutes von Gobius jozo.

Im Blute von Gobius jozo konnten wir sowohl geschlechtslose (Merozoiten), als auch geschlechtliche Formen (Gameten) beobachten (Taf. III, Fig. 14—24).

Merozoiten (Taf. III, Fig. 14—17) fanden sich in der Zahl von 1 (Taf. III, Fig. 14) und 2 (Taf. III, Fig. 15—17) in einem Erythrocyten. Wir denken jedoch, daß ihre Menge sich nicht auf diese Zahlen beschränkt und daß ihrer auch mehr vorkommen. Einen Beweis hierfür gibt der Umstand, daß wir Merozoiten mit sternförmigem Kern (Fig. 16), was auf eine beginnende Teilung hindeutet, sowie mit 2 Kernen sahen (Taf. III, Fig. 16).

Ihr Protoplasma ist blau gefärbt und locker. Die Kerne nehmen blaue oder violette Färbung an. Außer den Kernen kann man in Merozoiten an einem Ende des Parasiten ein intensiver gefärbtes Körnchen wahrnehmen.

Gameten (Taf. III, Fig. 18—21) sahen wir in der Zahl von 2 und 4 (Taf. III, Fig. 18—20) und sogar 6 (Taf. III, Fig. 21) in 1 Erythrocyten. Letztere Zahl erscheint befremdend, da die Menge der Hämogregarinen in einem Erythrocyten dank der ihnen zukommenden Zweiteilung stets 2, 4, 8 oder 16 beträgt. Wir glauben deshalb nicht, daß unsere Zahl 6 eine natürliche Erscheinung darstellt; vielleicht haben wir es auch hier mit einem noch nicht abgeschlossenen Teilungsprozesse zu tun. Jedenfalls bleibt es uns fürs erste unaufgeklärt, welches die maximale Anzahl der Gameten bei Gobius jozo ist.

Die Gameten besitzen Keulenform. Ihr lockeres Protoplasma färbt sich blau; ihr Kern, welcher im Zentrum oder näher zu dem verdickten Ende gelagert ist, färbt sich dagegen violett oder blauviolett. Zuweilen gewahrt man an dem einen Ende ein Centrosoma.

Die Maße der Parasiten sind folgende:

	Anzahl der Parasiten in einem Erythrocyten	Ganzer Parasit		Kern	
		Länge	Breite	Länge	Breite
Merozoiten	1	3,55 μ	1,42 μ	1,42 μ	1,42 μ
	2	4,26 „	2,84 „	2,48 „	2,48 „
		3,19 „	2,13 „	2,48 „	1,42 „
		2,84 „	2,13 „	1,42 „	1,42 „
Gameten	4	5,26 μ	1,42 μ	2,13 μ	1,42 μ
		7,10 „	1,42 „	2,13 „	1,42 „
	6	5,26 „	1,42 „	2,13 „	1,42 „

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Erythrocyten von Gobius jozo messen 12 $\mu \times 9{,}95$ μ.

Die die Parasiten beherbergenden Zellen leiden augenscheinlich unter Einwirkung derselben nicht besonders.

Außer den oben beschriebenen Gebilden sahen wir noch freischwimmende oder die Erythrocyten verlassende Parasiten (Taf. III, Fig. 22, 23 und 24). Die freischwimmenden sehen wir als Schizonten, die emigrierenden aber als Gameten an (ganz freie Gameten konnten wir nicht beobachten). Das Protoplasma ist bei beiden Arten kompakt und färbt sich intensiver tiefblau, als bei den in Erythrocyten eingeschlossenen. Bei den die Erythrocyten verlassenden Formen finden sich am dünnen Ende mehrere kleine, dunkelfarbige Punkte. Ihre Größe ist ein wenig bedeutender, als wie bei den in Erythrocyten enthaltenen Gameten.

Wir glauben, daß diese Hämogregarine eine neue Art bildet und benennen sie zu Ehren des russischen Protozoologen Dr. E. J. Marzinowsky **Haemogregarina Marzinowskii.**

5. Hämogregarine des Blutes von Torpedo marmorata.

Wir konnten ausschließlich Merozoiten (Taf. IV, Fig. 1 und 2) beobachten, und zwar stets 1 in jedem Erythrocyten. Es sind große Gebilde; ihre Form ist nicht ganz so regelmäßig wie bei den Merozoiten anderer Hämogregarinen. Der Kern ist im Vergleich zur Gesamtmasse des Protoplasmas klein. Ihre Länge beträgt 8,25—9,94 μ bei einer Breite von 2,84—7,10 μ (der Kern ist 1,42—2,84 μ lang und 1,06—2,84 μ breit); die Erythrocyten dieses Fisches sind ausnehmend groß, und zwar 22 $\mu \times 17$ μ. An dem einen Ende des Parasiten sieht man zuweilen ein Centrosoma.

Ob diese Hämogregarine mit der von Neumann bei Torpedo ocellaris beobachteten identisch ist, kann schwerlich entschieden werden, um so mehr, als dieser Autor nur Gameten und keine Merozoiten gefunden hat.

Jedenfalls scheiden wir aber diese Hämogregarine als besondere Art aus und bezeichnen sie zu Ehren des verstorbenen Zoologen der zoologischen Station zu Neapel, Dr. Lo Bianco, als **Haemogregarina Lo Bianci.**

6. Hämogregarine des Blutes von Blennius trigloides.

Diese Parasiten (Taf. IV, Fig. 3—7) wurden von uns in sehr spärlicher Anzahl konstatiert. Möglicherweise beschränkt sich der Blutbefund bei diesen Fischen nicht auf die unten beschriebenen Formen.

Hier kommen ebenso, wie bei allen früher beschriebenen Hämogregarinen, sowohl Merozoiten als auch Gameten vor.

Von Merozoiten fanden sich je 1 in einem jeden Erythrocyten (Taf. IV, Fig. 3). In ihrer Form erinnern sie an Merozoiten anderer Hämogregarinen. Die Länge beträgt 4,61 μ, die Breite 2,84 μ (der Kern ist 2,84 μ lang und 2,84 μ breit).

Gameten (Taf. IV, Fig. 4—6) kommen in der Anzahl von 1 und 2 vor. In ihrer Form weichen sie ein wenig von der Form anderer von uns beobachteter Gameten ab; sie sind weniger regelmäßig und beide Enden des Parasiten haben anscheinend die gleiche Form und Breite. Der Kern befindet sich näher nach dem einen Ende. Man gewahrt auch Chromatinkörnchen. Auf Taf. IV, Fig. 5 sieht man, wie dieses Granulum

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sich in 2 geteilt hat; auf Taf. IV, Fig. 6 aber sehen wir eine bereits vollendete Kernteilung.

Es ist schwer, zu erklären, was die auf Taf. IV, Fig. 7 abgebildete Form darstellt. Hier handelt es sich augenscheinlich um 2 Gameten, jedoch sind dieselben von einem cystenähnlichen Gebilde umgeben.

Die Maße der Gameten sind: Länge 9,94 μ, Breite 2,48—2,84 μ (beim Kerne: Länge 2,84—4,26 μ, Breite 1,42—2,48 μ); mit der Kapsel: Länge 8,25 μ, Breite 4,97 μ.

Die Erythrocyten (12,7 $\mu \times$ 8,8 μ) leiden augenscheinlich durch den Parasiten nicht.

Wir schlagen vor, diese Hämogregarine zu Ehren von Dr. E. E. London, des Vorstehers der Abteilung für allgemeine Pathologie am Institute für experimentelle Medizin zu St. Petersburg, **Haemogregarina Londoni** zu benennen.

7. Hämogregarine des Blutes von Solea lutea.

Wir berichteten in der Literaturübersicht, daß Neumann im Blute dieses Fisches eine Hämogregarine beobachtet hat. Die von ihm gefundenen Gameten gehören zu den größten bisher beobachteten (bis zu 32 μ Länge, im Durchschnitt 25—26 μ).

Zweifellos haben wir dieselbe Haemogregarina clavata (Taf. II, Fig. 12—18) bei diesem Fische beobachtet. Neumann sah jedoch ausschließlich Gameten (einen Parasiten, der einem Merozoiten ähnlich sah, hält er für zweifelhaft). Wir jedoch konnten außer Gameten (Taf. II, Fig. 15—18) auch Merozoiten (Taf. II, Fig. 12 und 13) beobachten; ihre Zahl betrug 1 und 2. Ihre Größe ist ebenso, wie diejenige der Gameten, eine bedeutende; in dieser Beziehung können nur die Merozoiten von Torpedo marmorata gegen sie aufkommen. Dieses sind breite Gebilde mit blau oder bunt gefärbtem Protoplasma und rotem Kern; das eine Ende derselben ist breiter, das andere schmäler und zugespitzt. Ein Centrosoma kommt nicht in allen Fällen vor. Der Kern des Erythrocyten ist stets gegen dessen Peripherie verschoben.

Außer diesen in den Erythrocyten eingeschlossenen Merozoiten sahen wir jedoch auch freischwimmende (Taf. II, Fig. 14). Sie sind bedeutend kleiner, als die in den Erythrocyten eingeschlossenen, besitzen jedoch einen durchaus gleichen Bau, nur ist ihr Protoplasma heller; in einigen von ihnen sieht man ein Centrosoma.

Wir sahen nie Gameten in den Erythrocyten, sondern sie lagen entweder neben den Ueberbleibseln roter Blutkörperchen, deren Protoplasma vollständig aufgelöst war und deren Kern sich auf dem Wege hierzu befand, oder sie schwammen frei umher. Sehr häufig hängen sie büschelförmig zusammen, wie bei der Haemogregarina Simondi (Taf. II, Fig. 15). Vereinigt waren sie stets zu 4; die freischwimmenden Parasiten aber waren entweder in derselben Anzahl (Taf. II, Fig. 17 und 18) vertreten oder kamen vereinzelt vor (Taf. II, Fig. 16). Zuweilen hat bei freischwimmenden Gameten der Kern keine deutlichen Umrisse; der Gamet ist in einigen Fällen gebogen, das eine Ende desselben windet sich korkzieherartig um das andere. Zuweilen sieht man deutlich ein Centrosoma. Die Größe der Gameten ist eine bedeutende.

Die Maße der Parasiten sind folgende:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	Anzahl der Parasiten in einem Erythrocyten	Ganzer Parasit		Kern	
		Länge	Breite	Länge	Breite
Merozoiten	1	8,25 μ	4,26 μ	3,55 μ	3,55 μ
	2	11,36 „	4,26 „	4,26 „	4,26 „
	frei-	4,97 „	2,84 „	2,84 „	2,84 „
	schwimmend	3,55 „	2,13 „	1,77 „	1,42 „
Gameten	4	25,56 μ	2,13 μ	4,97 μ	2,13 μ
	frei- 1	21,30 „	1,42 „	2,13—2,84 μ	1,42 „
	schwimmend 4	22,72 „	2,84 „	4,26 μ	1,42 „

Die Erythrocyten messen 12,7 $\mu \times 8{,}8\ \mu$.

Unsere Untersuchungen von Blutausstrichpräparaten bei Gobius paganellus haben bis jetzt im Vergleiche zu dem, was Neumann beobachtete (Haemogregarina polypartita), nichts Neues ergeben.

Erklärung der Tafeln.

Tafel I.

Fig. 1—21. Hämogregarinen von Gobius capito.
Fig. 1a, b und c. Freie Merozoiten.
Fig. 2—12. Merozoiten.
Fig. 13—21. Gameten.

Tafel II.

Fig. 1—11. Hämogregarinen von Gobius cruentatus.
Fig. 1—6. Merozoiten.
Fig. 7—11. Gameten.
Fig. 12—18. Hämogregarinen von Solea lutea.
Fig. 12—14. Merozoiten.
Fig. 15—18. Gameten.

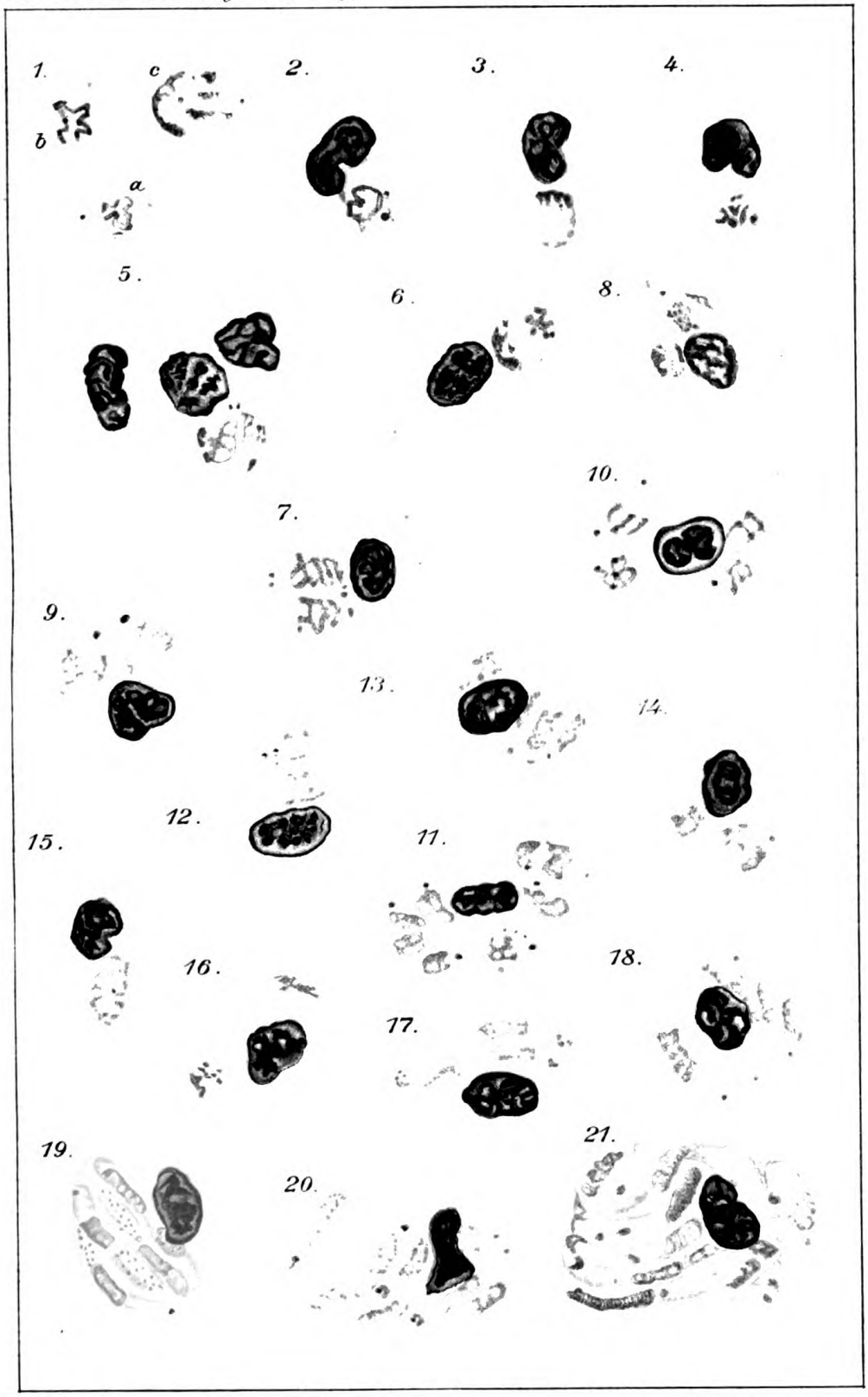
Tafel III.

Fig. 1—13. Hämogregarinen von Gobius aurantus.
Fig. 1—6. Merozoiten.
Fig. 7—13. Gameten.
Fig. 14—24. Hämogregarinen von Gobius iozo.
Fig. 14—17. Merozoiten.
Fig. 18—24. Gameten.

Tafel IV.

Fig. 1 und 2. Merozoiten von Torpedo marmorata.
Fig. 3—7. Hämogregarinen von Blennius trigloides.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Nina Kohl-Yakimoff gez. Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. A. Giltsch, Jena.

Digitized by Google

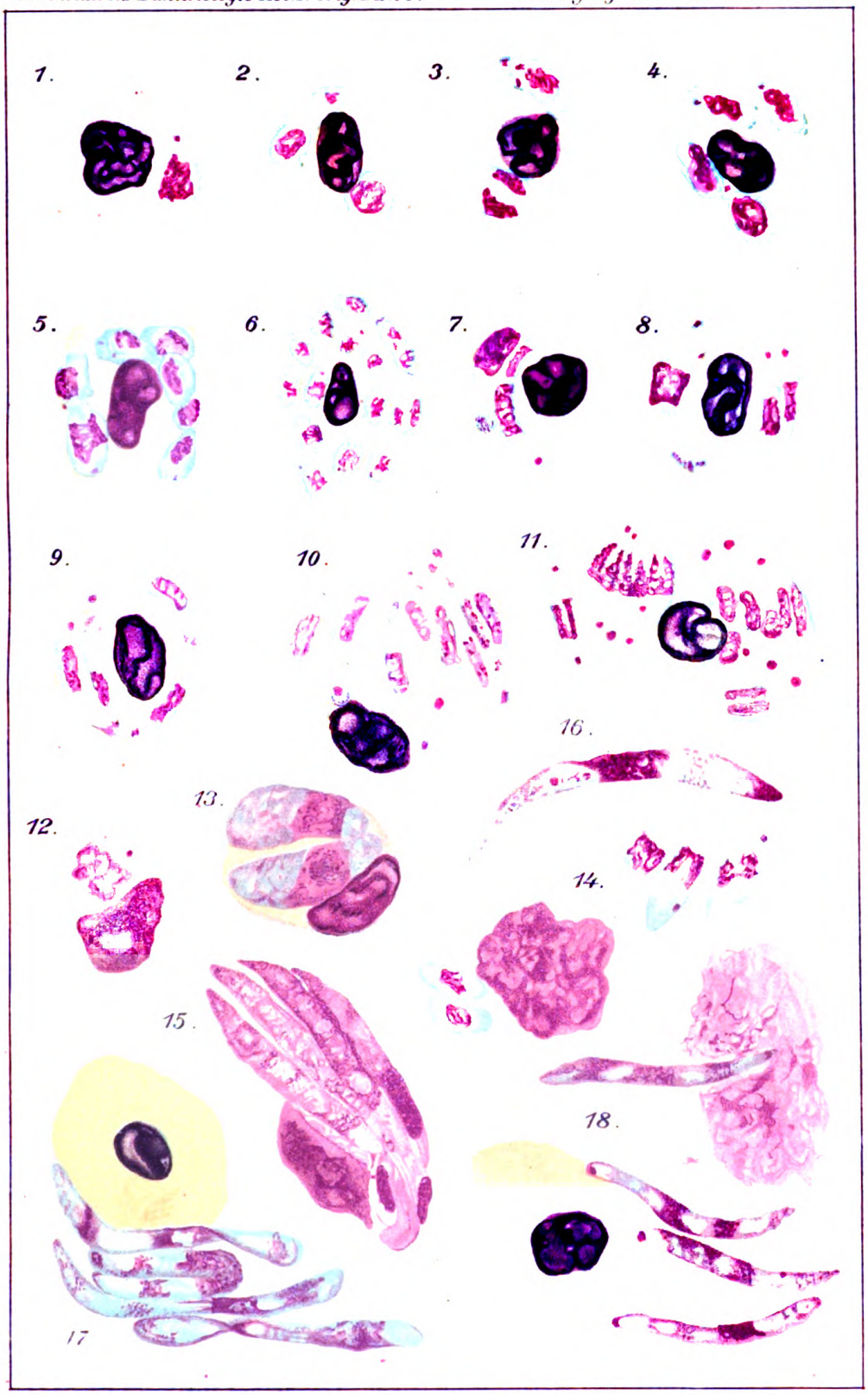
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN



Nina Kohl-Yakimoff gez. Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. A. Giltsch Jena

Digitized by Google

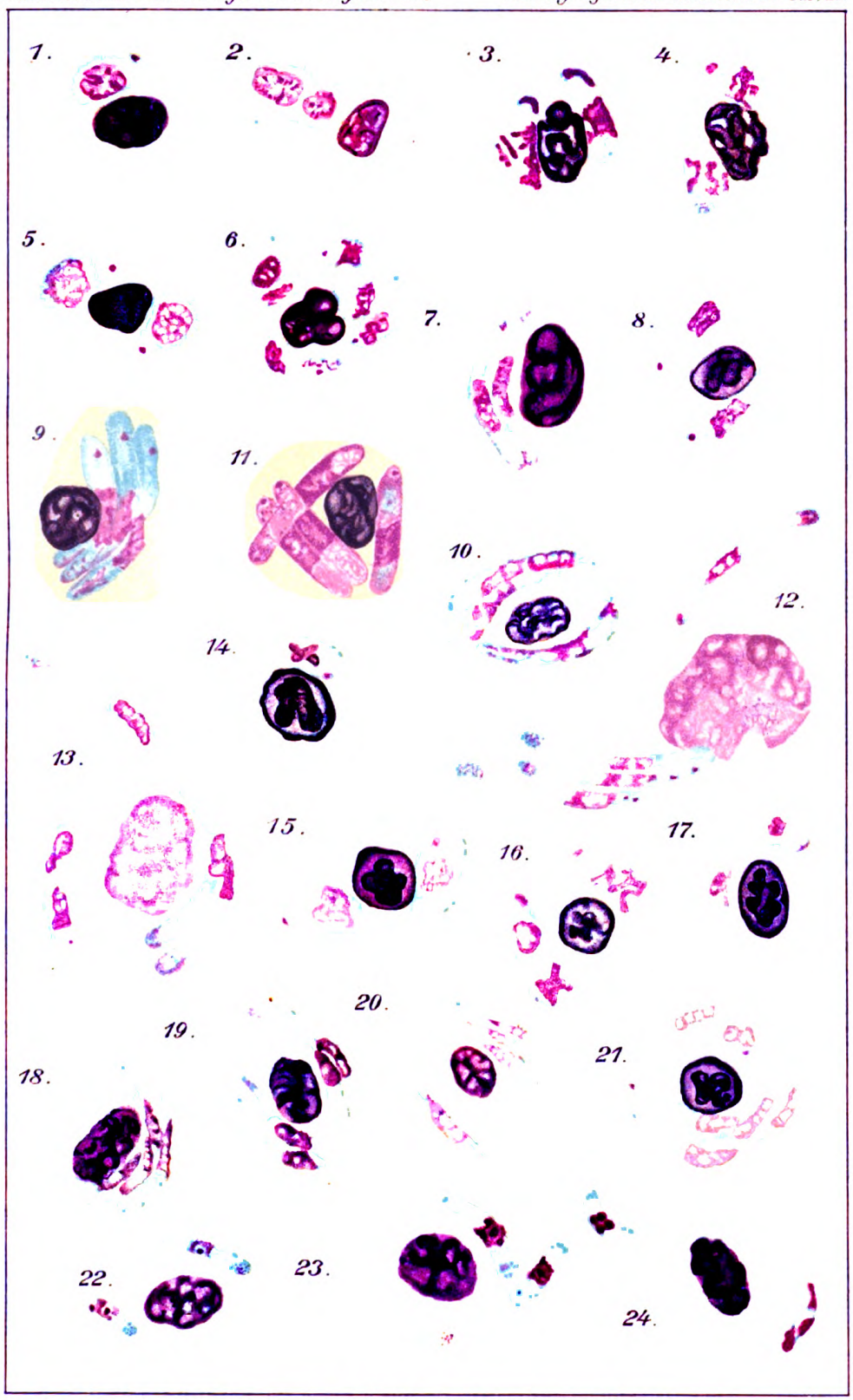
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN



Nina Kohl-Yakimoff gez. Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. A. Giltsch, Jena.

Digitized by Google

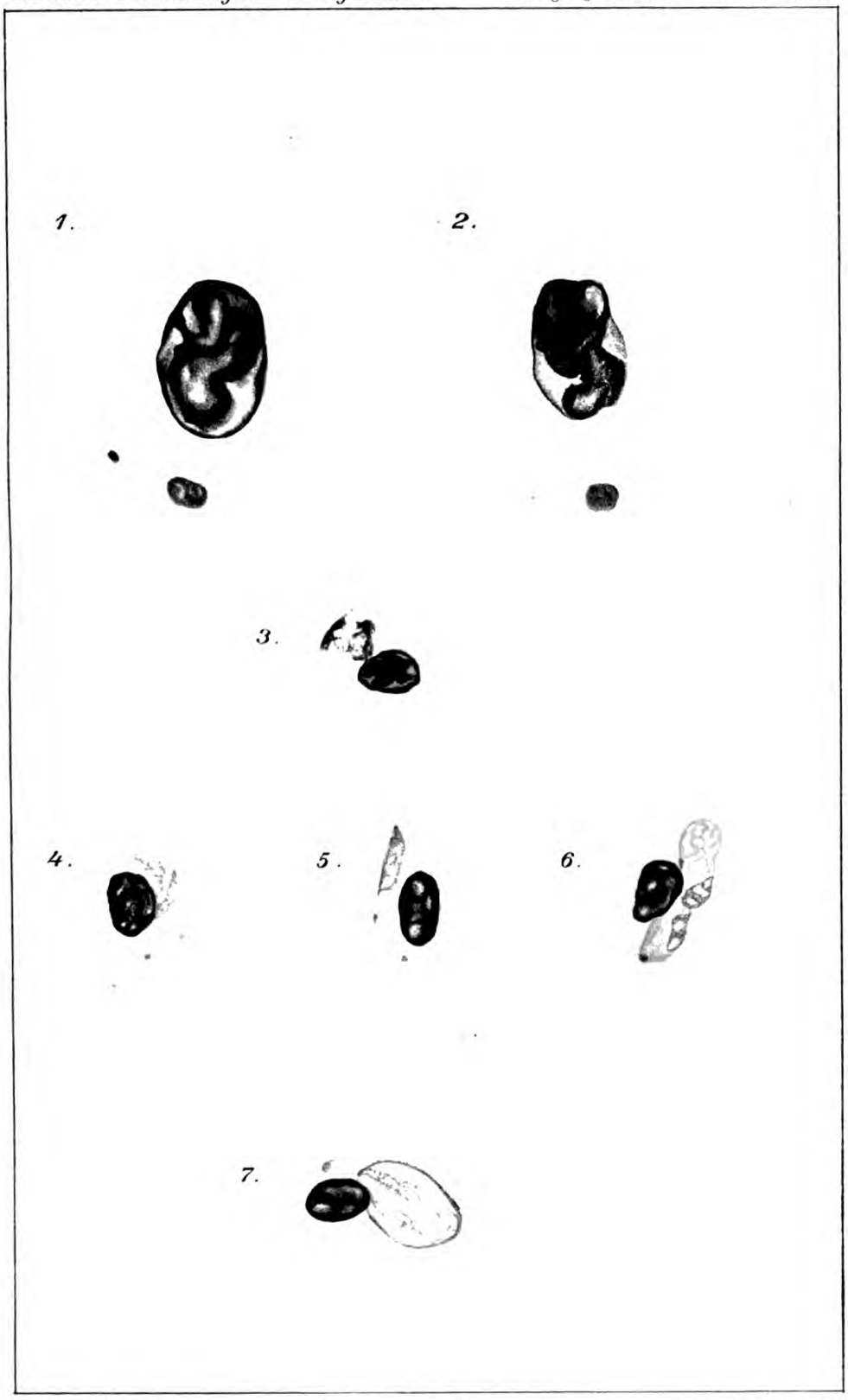
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN



Nina Kohl-Yakimoff gez. Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. A. Giltsch Jena

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Entwickelung der freilebenden Generationen der Lungenwürmer.

[Aus dem parasitologischen Laboratorium der Universität.]

Ausgeführt mit Unterstützung des Reichsamts des Innern und des Allgemeinen Deutschen Jagdschutzvereines.

Eingesandt am 27. Juli 1914.

Von Prof. Dr. **Gräfin von Linden,** Bonn.
Unter Mitarbeit von **L. Zenneck,** Bonn.

Mit 4 Tafeln.

Wie aus meinen Veröffentlichungen in der Zeitschrift des Allgemeinen Deutschen Jagdschutzvereins (Jahrg. 1910) hervorgeht, hatte ich schon früher beobachtet, daß die Embryonen des Lungenwurmes, die von lungenwurmkranken Tieren durch den Darm nach außen abgeschieden werden oder dem Dickdarm entnommen und mit den Faeces in Kulturgläsern aufbewahrt wurden, sich unter geeigneten Bedingungen zu einer mikroskopisch kleinen, der Fortpflanzung fähigen, freilebenden Geschlechtsgeneration entwickelten. Ich hatte auch gesehen, daß die freilebende Lungenwurmgeneration sich außerhalb ihres Wirtes vermehrte und sich gegen äußere Einflüsse sehr widerstandsfähig zeigte.

Die Richtigkeit dieser Beobachtungen wurde indessen von verschiedenen Seiten bestritten und die von mir gesehenen Entwickelungsformen und geschlechtsreifen Nematoden aus den Faeces lungenwurmkranker Schafe und Rehe für „unschuldige Erdnematoden“ oder für Entwickelungsstadien von Darmschmarotzern erklärt.

Da in den Faeces lungenwurmkranker Tiere tatsächlich auch häufig andere schmarotzende Würmer beobachtet werden, so mußten, um diesen Einwänden zu begegnen und die Frage klarzustellen, die Experimente wiederholt werden, und zwar mit einer Versuchsanordnung, bei der eine Verunreinigung der Kulturen durch andere Wurmarten von Anfang an ausgeschlossen war. In erster Linie durfte ich mich nicht der Wurmembryonen bedienen, die durch den Darm abgeschieden werden, und zweitens mußte die Aussaat der Wurmembryonen, deren Entwickelung studiert werden sollte, nicht auf Faeces, sondern auf sterilisierter Erde erfolgen. Als Untersuchungsmaterial dienten mir deshalb in diesem neuen Versuche Lungenwurmembryonen, die direkt den Wurmknoten der Lunge wurmkranker Tiere entnommen waren.

Solcher die Lungenwurmembryonen enthaltender Lungenschleim, der sich beim Auskratzen der Lungenwurmknoten gewinnen ließ, wurde als Ausgangsmaterial für die Versuche verwendet. Als Nährboden wurde Erde gebraucht, die durch Ausglühen unmittelbar vorher sterilisiert worden war. Die Erde wurde vor Gebrauch jedesmal so lange geglüht, bis alle organische Substanz in Kohle verwandelt war. Der Inhalt der Wurmknoten wurde in die so vorbereitete Erde eingetragen und die Kulturen teils mit Leitungswasser, teils mit Speichel feucht erhalten. Da ich beobachtet hatte, daß die aus den Faeces gewonnenen, in Larven verwandelten Lungenwürmer ihren Aufenthalt besonders gern in den

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Sporangien von Schimmelpilzen wählen, so wurde versucht, diese Versuchsanordnung dadurch zu kopieren, daß wir auf die sterilisierte Erde, in der die pflanzlichen Keime abgestorben waren, Watte legten oder Graspflänzchen einsetzten, die vorher auf die Abwesenheit von Nematodenlarven oder -eiern untersucht worden und deren Wurzeln sorgfältig ausgewaschen worden waren. Es sollte den eventuell sich aus den Lungenwurmembryonen entwickelnden Wurmlarven Gelegenheit gegeben werden, an den Fasern der Watte und an den Grashalmen in den Schalendeckel heraufzuklettern, denn die früheren Beobachtungen hatten gezeigt, daß die kleinen Wurmlarven mit Vorliebe die dort in Tautropfen niedergeschlagene Feuchtigkeit aufsuchen. Später wurde die Versuchsanordnung insofern vereinfacht, als in die sterilisierte Erde wurmfreier Grassamen eingetragen wurde, der schon nach einigen Tagen auszukeimen pflegt. Durch Kontrollproben wurde festgestellt, daß der Grassamen selbst frei von Nematodeneiern war und daß beim Auskeimen auf normaler Erde keine Würmer zur Entwickelung kamen. Trotzdem haben wir neben den mit lungenwurmhaltigem Material versetzten Kulturen immer mehrere Kulturgläser nicht infiziert, um sie als Beweis für die Reinheit des Grassamens und der sterilisierten Erde, sowie des Leitungswassers benützen zu können. Ich hebe hervor, daß die Kontrollgläser alle frei von Würmern geblieben sind.

Die Schalen, in denen sich die Wurmkulturen befanden, und ebenso die Kontrollgläser wurden jede mit einer Glasglocke bedeckt, die hoch genug war, daß das Gras sich ungestört entwickeln konnte, aber Verunreinigungen der Kulturen verhinderte. Das Gras entwickelte sich am besten, wenn es dem Lichte ausgesetzt, aber nicht von direkter Sonne getroffen war. Von Zeit zu Zeit wurde die Erde mit etwas Leitungswasser oder, was meine Assistentin, Frl. Zenneck, versucht hat, mit Speichel angefeuchtet. Um das Umfallen der Grashalme und ein frühzeitiges Gelbwerden zu verhindern, mußte das Gras ab und zu geschnitten werden. Es zeigte sich ferner im Laufe des Versuches, daß es für die Entwickelung der Würmer wünschenswert war, daß der Kulturboden nach kürzerer oder längerer Zeit mit frisch sterilisierter Erde umgearbeitet und mit frischem Grassamen besät wurde. Zu starke Fäulnis, die leicht entsteht, wenn das Gras in den Schalen nicht mehr genügend Nahrung hat und sehr feucht gehalten wird, ist für die Entwickelung der Würmer nachteilig.

Untersucht wurde bis jetzt die Entwickelung des Strongylus micrurus aus der Rehlunge, des Strongylus filaria aus der Lunge des Rindes, des Strongylus paradoxus aus der Lunge des Wildschweins, des Strongylus commutatus aus der Lunge des Hasen, und Strongylus capillaris aus der Lunge der Ziege. Wie aus den hier folgenden Ausführungen und Beschreibungen hervorgehen wird, haben sämtliche der untersuchten Lungenwurmarten nach der Richtung übereinstimmende Resultate ergeben, als aus den Embryonen der Lungenwurmknoten Larven hervorgingen, die im Freien zu sich vermehrenden Geschlechtsgenerationen wurden.

Eine kurze Darstellung und Beschreibung der Entwickelung der freilebenden Generation von Strongylus micrurus ist bereits in der „Deutschen Tierärztlichen Wochenschrift". 21. Jahrg. No. 35 erschienen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Begonnen wurden diese Versuche am 9. Mai 1912, an welchem Tage die aus dem Lungenwurmknoten eines Rehes durch Auskratzen gewonnene Wurmbrut von Strongylus micrurus auf sterilisierte Erde verbracht wurde. Die Nachkommen dieser Wurmbrut sind heute noch in der 9. Generation vertreten. Auch Strongylus filaria aus der Rinderlunge, St. paradoxus aus der Lunge des Schwarzwildes, St. commutatus aus der Lunge des Hasen und St. capillaris aus der Lunge der Ziege haben wir bereits in mehreren Generationen weitergezüchtet.

Ich beginne mit der Beschreibung der freilebenden Generation von Strongylus micrurus, und zwar mit dem Ausgangsmaterial, den Eiern und Embryonen aus den Lungenwurmknoten des Rehes. Da die Eier und Embryonen, die wir in den Lungen der von der Lungenwurmkrankheit befallenen Tiere antreffen, in ihrem Aussehen identisch sind mit den Eiern und Embryonen, die sich in den Uteri der geschlechtsreifen Weibchen der parasitierenden Wurmgeneration vorfinden, so wird es wohl richtig sein, anzunehmen, daß diese Embryonen von den geschlechtsreifen, parasitischen Weibchen in großer Menge in der Lunge abgesetzt werden, bzw. aus den Uteri abgestorbener Weibchen stammen und durch Aspiration in die Lungenalveolen gelangen. Die Geschlechtstiere werden in der Regel mit dem Kopfende nach unten gesichtet, also auf der Einwanderung in die Lunge angetroffen, wo sie bis in die feinsten Verästelungen der Bronchien vordringen. Man findet aber auf dieser Wanderung nicht nur reife Männchen und Weibchen, sondern auch noch nicht ausgewachsene, sehr viel kleinere Exemplare. Die Wurmeier, die wir in dem ausgekratzten Alveolarschleim antreffen sind von ganz verschiedener Größe und befinden sich in den verschiedensten Stadien der Furchung, so daß angenommen werden muß, daß die in den Lungenalveolen vorgefundene Wurmbrut den ganzen Inhalt der Eierstöcke der parasitischen Weibchen bildet, und nicht im reifen Zustand abgelegt wird. Wahrscheinlich platzt bei den befruchteten, parasitischen Weibchen die Körperhülle und läßt die Generationsorgane austreten. Man findet jedenfalls häufig in dieser Weise veränderte Weibchen in den Bronchien, und man kann auch den ganzen Vorgang verfolgen, wenn man geschlechtsreife Weibchen lebend auf feuchte Erde, oder in physiologische Kochsalzlösung bringt und einige Stunden bei Bluttemperatur — 37° C — im Brutschrank stehen läßt.

Die reifen, den ausgebildeten Wurmembryo enthaltenden Eier sind 90—104 μ lang und 60—78 μ breit, ihr Längsdurchmesser verhält sich zu dem der Breite wie 3 : 1, die Gestalt der Eier ist somit breit-oval. Die Eischale ist dünnwandig und farblos (Taf. I, Fig. 1, 1 b).

Der Wurmembryo liegt in dem Ei entweder ringförmig aufgerollt, oder S-förmig gekrümmt. Schon im Ei unterscheiden sich die mit Osmiumsäure gefärbten und geschwärzten Embryonen in solche, die gleichmäßig gebräunt erscheinen und von schlankerer Gestalt sind, und in solche mit schwarz gefärbten, zum Teil schollenförmig zusammengeballten Granulationen, die einen plumperen Eindruck machen. Die schlanken Formen sind in den größeren, die kürzeren und plumperen in den kleineren Eiern enthalten. Dieser Unterschied in ihrem Verhalten zur Osmiumsäure bleibt auch bei den Embryonen bestehen, wenn sie das Ei verlassen haben.

Die Länge der außerhalb des Eies angetroffenen Embryonen beträgt 280—432 μ; sie haben somit ungefähr die 3—4-fache Eilänge. Ihre

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Breite schwankt, in der Mitte des Körpers gemessen, zwischen 20 und 25 μ. Das Kopfende dieser Würmchen ist zugespitzt, der Mundrand glatt, ohne papillenförmige Verdickungen, die Cuticula weder längs noch quer gestreift, am Schwanzende, das bei den fixierten Embryonen sichelförmig gekrümmt ist, befindet sich der 4—10 μ lange, hakenförmig gebogene Lappen und am Grund desselben ein kleiner Stachel, beide Organe die charakteristischen Attribute der Embryonen von Strongylus micrurus und St. capillaris; der Lappen ist bei Capillaris etwas größer. Im Innern der Wurmembryonen läßt sich der filariaförmige Darm erkennen, der den Körper von vorn bis hinten in leicht gekrümmter Linie durchzieht, und an dem man bei schon weiter entwickelten Exemplaren bereits eine leichte Abschnürung in der vorderen Hälfte, die Anlage des Oesophagus, unterscheiden kann. Außer dem Darm läßt sich bei den durch Osmium geschwärzten Embryonen oft ganz deutlich der Schlundring erkennen (Taf. I, Fig. 2).

Ich habe bereits darauf hingewiesen, daß die aus den Lungenwurmknoten gewonnenen Embryonen sich durch ihren mehr oder weniger großen Gehalt an durch Osmium sich schwärzenden Granulationen, also wahrscheinlich durch einen verschieden großen Gehalt an Fettkörpern oder an Lecithin, unterscheiden; ihr Vorderende ist weniger zugespitzt und läuft in einen kurzen, rüsselartigen Mundkegel aus. Diese plumperen Embryonen sind außerhalb des Körpers viel weniger widerstandsfähig als die granulierten, stark beweglichen Formen; sie sind auch weniger beweglich und sterben nach kurzem Aufenthalt auf Erde ab. Wenn wir den Schleim der Trachea und des Nasenrachenraumes der durch Lungenwürmer infizierten Tiere untersuchen, so finden wir in demselben immer nur die schlanken, nicht granulierten, stark beweglichen Formen, nicht aber die plumpen Würmchen. Diese letzteren scheinen somit nicht für das Leben im Freien bestimmt zu sein und vermitteln vielleicht eine endogene Vermehrung. Diese Differenzierung in schlanke, bewegliche und langlebige und in dicke, plumpe und kurzlebige Embryonen ist nicht nur für Micrurus, sondern für die Embryonen aller bisher untersuchten Lungenwurmarten charakteristisch.

In den ersten Tagen nach der Aussaat des Lungenwurmmaterials auf sterile Erde treten noch keine eingreifenden Veränderungen an den Wurmembryonen auf, nur ihre anfänglich große Lebhaftigkeit läßt allmählich nach, sie bleiben nicht in den Schleimhäufchen liegen, die zuerst noch ihr Aufenthalt sind, sondern verteilen sich in der Erde der Kulturschale. Anfangs lassen sich die Embryonen aus ihrem Versteck noch herauslocken, wenn man die Erde frisch anfeuchtet und die Schale schräg stellt, so daß die Flüssigkeit sich an einer Seite sammeln kann, aber nach 14 Tagen etwa scheint alles Leben erloschen zu sein, und man muß die Würmchen in ihren Verstecken aufsuchen, um sich davon zu überzeugen, daß sie nicht alle verschwunden sind.

Die Embryonen erscheinen jetzt etwas länger geworden (Fig. 6). Bei einzelnen tritt der Darm deutlicher hervor, weil die die Darmwand bildenden Zellen dunkel gefärbte Granulationen enthalten, die Abschnürung des Oesophagus ist deutlicher, aber das charakteristisch gestaltete embryonale Schwanzende ist noch unverändert. Nach der ersten Häutung, die bei den Embryonen zu ganz verschiedenen Zeiten einsetzt, verlieren die Embryonen den Schwanzlappen und Stachel und erinnern in der Gestalt ihres Hinterendes an Strongylus filaria (Fig. 8, 9).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ehe sie aber in ihrer veränderten Gestalt erscheinen, liegen sie in der Embryonalhülle eingeschlossen, deren Raum sie jetzt nicht mehr ganz ausfüllen. Die Larven sind unmittelbar nach dem Ausschlüpfen kleiner, als es die Embryonen waren.

Die Larven finden sich zuerst nur spärlich in den Graswurzeln versteckt, aber ungefähr 5 Wochen nach der Aussaat des Lungenmaterials setzt, wenigstens bei den Frühjahrskulturen, wiederum reges Leben ein. Wird zu diesem Zeitpunkt der Inhalt einer Schale fixiert, so finden wir alle Uebergangsformen, vom unveränderten Embryo bis zu den von der ersten freilebenden Geschlechtsgeneration abgesetzten Eiern und den aus diesen hervorgegangenen Larven der zweiten Generation.

Wie schon erwähnt, sind die kleinen Larven nach ihrer ersten Häutung von den Embryonen der Lunge noch wenig verschieden.

Aber schon die nächste Entwickelungsstufe läßt in bezug auf die Entwickelung des Darmkanales charakteristische Veränderungen erkennen (Fig. 3). Es ist jetzt ein deutlich abgesetzter, zylindrisch gestalteter Oesophagus vorhanden, dessen Länge durchschnittlich etwas weniger als die Länge der Körperhälfte beträgt, der in einen kugelig gestalteten Pharynx führt, welcher durch eine kleine Einschnürung von dem breiteren Darmrohr abgesetzt ist. Durch Kontraktion des Darmrohres in seiner Längsrichtung kann der Pharynx in den Anfang des Darmrohres eingezogen werden.

Die Larven sind, wie erwähnt, zuerst kleiner und schlanker als die Embryonen; ihre Länge schwankt zwischen 200 und 300, ihre Breite zwischen 8—16 μ. Die Körpercuticula ist glatt wie vorher, der Mund ohne Papillen. Bei manchen Exemplaren sieht man einen durch Osmium geschwärzten Schlundring und von ihm ausgehend 6 ebenfalls geschwärzte, zarte, nach vorn verlaufende Nervenstränge, die wie feine Chitinstäbchen in die zarte, hyaline, vorstülpbare Hautbegrenzung des Mundes auslaufen. Das Hinterende der Larven endet in einen kurzen, meistens nach innen gekrümmten, zugespitzten Schwanz. Die schlitzförmige Afteröffnung mündet etwa 50 μ vor der Schwanzspitze nach außen. Unter den Larven lassen sich kleinere und schlankere und größere, dickere Formen unterscheiden. Die ersteren werden zu Männchen, die letzteren zu Weibchen. Bei den etwas älteren männlichen Larven lassen sich bereits hinter dem After gelegene kleine, paarige Spicula wahrnehmen und in der hinteren Körperhälfte im Rücken gelegen ein ovales Organ, die Anlage des Hodens.

Bei den älteren weiblichen Larven ist die Anlage eines paarigen Ovariums in der vorderen bzw. hinteren Körperhälfte zu erkennen (Fig. 5). Diese Ovarialanlage liegt nicht weit von der Körpermitte auf der Bauchseite dem Darm als bandförmiges Organ auf. Die Anlage der Vulva ist durch eine kleine Einstülpung in der zweiten Körperhälfte angedeutet. An dieser Stelle zeigt sich das Darmrohr durch die Bildung der Ausführungsgänge der Genitalorgane an der Rückenseite der Körperhülle fest angelegt.

Je älter die Larven werden, desto kürzer erscheint der Oesophagus im Verhältnis zur Körperlänge, dasselbe gilt für die Schwanzspitze. Der Körper wächst, wie aus den Messungen hervorgeht, langsamer als die genannten Teile und bedingt dadurch das relative Kürzerwerden von Oesophagus und Schwanzspitze. Dieses Zurückbleiben der genannten Organe verglichen mit dem Gesamtkörperwachstum ist bei der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Entwickelung sämtlicher Wurmarten, aber jedesmal nur innerhalb einer und derselben Generation, zu beobachten.

Zu der Zeit, wo durch die Anlage der Geschlechtsorgane eine Differenzierung in männliche und weibliche Tiere sichtbar wird, sind die Larven durchschnittlich größer, als es die Embryonen waren. Die Länge der weiblichen Larven schwankt nach meinen Messungen zwischen 400 und 670 μ, eine der viel selteneren männlichen Larven maß 520 μ.

Auch im geschlechtsreifen Zustande bleiben die männlichen Würmchen in ihrer Größe hinter den Weibchen erheblich zurück. Von den erwachsenen Weibchen der ersten freilebenden Generation, die im Juni und Juli 1912 zur Entwickelung kamen, maßen die kleinsten Weibchen 733, die längsten 900 μ (Taf. I, Fig. 8). Das gleichzeitig gefundene Männchen war nicht größer als die weiblichen Larven; seine Länge betrug 650, seine Breite 25 μ, gegen 37 μ der erwachsenen Weibchen (Fig. 9).

Ich erwähnte im vorhergehenden, daß die ersten geschlechtsreifen Weibchen der freilebenden Generation bei Strongylus micrurus bereits nach 5 Wochen ausgebildet waren. Auch bei den übrigen Lungenwurmarten ist zur Entwickelung der geschlechtsreifen Würmer ungefähr dieselbe Zeit notwendig.

Was nun den Körperbau der ersten freilebenden Generation von Strongylus micrurus betrifft, so verweise ich im einzelnen auf die Tabelle und Tafeln. Bei beiden Geschlechtern ist die den Körper umschließende Cuticula glatt, weder längs noch quer gestreift; sie erscheint bei den größeren Weibchen etwas dicker als bei den kleineren Männchen. Unter der Cuticula liegt der Muskelschlauch, von dem aus an manchen Stellen Muskelfasern nach innen abgehen, die als Aufhängebänder der in der Leibeshöhle liegenden Organe, des Darmkanals und der Geschlechtsorgane, funktionieren. Das zugespitzte Vorderende des Körpers trägt bei beiden Geschlechtern eine zentral gelegene, glattrandige Mundöffnung, die in eine zylindrisch gebaute Mundhöhle führt, deren Wand sich mitunter mit Osmium dunkelbraun färbt. Die Mundöffnung trägt einen hyalinen Saum, der in die Mundhöhle eingezogen werden kann. Wie bei der größeren Larve, so lassen sich auch bei den erwachsenen Weibchen in einzelnen, besonders günstig gefärbten Präparaten feine, durch Osmium geschwärzte, stäbchenförmige Gebilde erkennen, die, von einem am Grund der Mundhhöhle gelegenen, braun gefärbten Ring ausgehend, sich in den hyalinen Mundsaum hinein fortsetzen und diesen zu stützen scheinen. Das Mundrohr führt in den zylindrisch gebauten Oesophagus, der sich nach vorn und hinten etwas verjüngt und in den, je nach seinem Kontraktionszustand, mehr kugelig oder ellipsoidisch gestalteten Pharynx übergeht. Die kräftigen Wände des Oesophagus erscheinen durch radiär angeordnete Muskelzellen quer gestreift. Auch der Pharynx ist dickwandig und läßt bei tiefer Einstellung radiäre Streifung erkennen. Die Länge des Oesophagus beträgt bei den erwachsenen Weibchen der ersten freilebenden Geschlechtsgeneration $^1/_4$ der Körperlänge (Taf. I, Fig. 8); bei den Männchen ist der Oesophagus verhältnismäßig länger. Der Pharynx führt in das sich sofort erweiternde Darmrohr und kann mit seinem unteren Ende in dasselbe eingezogen werden. Der Darm, dessen Wandzellen sich mit Osmium dunkel färben, durchsetzt den Körper des Wurmes in ziemlich gerader Richtung; er wird nur beim Weibchen durch die Lage des Uterus in der Vulvagegend

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aus dem geraden Verlauf verdrängt und nach der Rückenseite des Körpers verschoben. Der After, durch den der Darm nach außen mündet, ist schlitzförmig; bei den Weibchen der späteren Generation sieht man nicht selten, daß der Darm vor dem After sich kloakenartig erweitert. Die Afteröffnung liegt beim Weibchen der ersten Generation 50—60 μ vor dem Ende der Schwanzspitze. Beim Männchen beträgt der Abstand des Afters von der Schwanzspitze nur 46 μ. In den beiden Geschlechtern der ersten Generation endigt der Schwanz in eine nach innen gekrümmte, kurze Spitze, die beim größeren Weibchen etwas länger und weniger stark nach unten gebogen ist als beim Männchen.

Die Geschlechtsorgane des Weibchens (Taf. I, Fig. 8) münden durch eine Vulva, die von wulstigen Lippen begrenzt ist, nach außen. Die Vulva ist hinter der Körpermitte gelegen und führt in eine kurze Vagina, die sich in einen paarigen Uterus gabelt. Der eine Uterus erstreckt sich nach vorn, der andere nach hinten; beide bilden, ehe sie in das zugehörige Ovarium führen, kleine Erweiterungen, die vielleicht als Receptacula seminis zu deuten sind. Bei Weibchen, die bereits fertige Eier enthalten, sind die Erweiterungen nicht mehr zu sehen. Die Keimdrüsen erscheinen zuerst als langgestreckte, bandförmige Massen, die nach hinten bzw. nach vorn ziehen, dann nach vorn bzw. hinten umbiegen und auf der Rückenseite hinter dem Darm in der Mitte des Körpers wieder zum Vorschein kommen. Die Umbiegungsstellen der Ovarien sind meistens durch den dunkel gefärbten Darm verdeckt. Bei weiter entwickelten Weibchen sieht man, wie in Taf. I, Fig. 21, in den proximalen Ovarialabschnitten Eizellen liegen. Bei den Weibchen mit entwickelten, zur Ablage reifen Eiern ist der zuerst enge Uterus zu einem breiten Kanal erweitert, besonders bei den Weibchen der späteren Generation, bei denen gleichzeitig mehrere Eier im Uterus enthalten sind (Taf. I, Fig. 16, 19, 23).

Die Männchen (Taf. I, Fig. 9) sind schon bei oberflächlicher Betrachtung durch die beiden, aus dem After über die Körperwand hinausragenden, scharf lichtbrechenden oder leicht bräunlich gefärbten, kleinen, gleichlangen Spicula gekennzeichnet. Nach innen verfolgt, setzen sich diese kleinen Häkchen in die Kloakenwand fort. Die männliche Geschlechtsdrüse besteht aus einem ziemlich breiten, ungefähr bis zur Körpermitte reichenden Hoden, der sich nach hinten in einen feinen, geschlängelt verlaufenden Samenleiter fortsetzt und in die Kloake einmündet, vorher eine kleine Erweiterung bildend. In Fig. 9 sieht man außerdem, daß in dem hinteren Hodenabschnitt sich größere Zellen (Spermatogonieen) differenziert haben.

Die Eier dieser ersten freilebenden Wurmgeneration sind bedeutend kleiner als die Eier aus den Wurmknoten, aber sie sind größer als die der späteren Nachkommenschaft. Allerdings habe ich bei den Weibchen der ersten Generation, die sich unmittelbar aus den Embryonen der Lunge entwickelt haben, nie mehr als ein einziges Ei gleichzeitig im Uterus zur Ablage reif gesehen, während bei den späteren Generationen die Vermehrung schneller vor sich geht und bis zu 8 Eier mit mehr oder weniger vollkommen entwickelten Embryonen beobachtet werden. Soviel ich gesehen habe, werden die Eier der Weibchen erster Generation abgelegt, bevor der Embryo noch vollkommen entwickelt ist; es finden sich wenigstens in den Kulturen 7—8 Wochen nach der Aussaat sehr zahlreiche, abgelegte Eier (Fig. 10c), in denen der Embryo in den ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schiedensten Stadien der Entwickelung war, und kein Weibchen mit vollkommen entwickeltem Embryo im intrauterinen Ei. In den späteren Generationen trifft man abgelegte Eier viel seltener an, was auch darauf schließen läßt, daß die Embryonen aus der Schale dann schneller entlassen werden.

Entsprechend der geringen Eigröße im Vergleich zu den Lungeneiern, sind auch die kleinen Larven, die sich aus den von der ersten, freilebenden Generation abgesetzten Eiern entwickeln, kleiner als die Embryonen aus der Lunge, und zwar ist der Größenunterschied ein sehr erheblicher. Während die Lungenembryonen eine mittlere Länge von 360 μ erreichen, sind die Nachkommen der ersten freilebenden Weibchen, wenn sie das Ei verlassen, nicht länger als durchschnittlich 200 μ (Fig. 14).

In ihrer Organisation gleichen diese kleinen Larven völlig ihren Eltern, und zwar nicht nur im embryonalen, sondern auch im Larvenzustand. Ihr Darm ist nicht filariform, wie er bei den Embryonen aus der Lunge war; die kleinen Larven haben bereits einen deutlich abgesetzten Oesophagus und einen ausgebildeten Pharynx, wie ihre Eltern im Larvenzustand. Der Oesophagus der kleinen Larven ist, wie es auch bei den jungen elterlichen Larven der Fall war, relativ zum Körper außerordentlich lang; der Schwanz ist in eine verhältnismäßig lange Spitze ausgezogen; der After ist bei einzelnen Exemplaren deutlich sichtbar, weil er nach Osmiumfixierung als dunkel gefärbtes Dreieck, ähnlich wie Spiculaanlagen, erscheint.

Diese kleinen Larven, die zweite freilebende Generation von Strongylus micrurus, wachsen zu schlanken Formen heran, die sich durch sehr viel längere Schwänze auszeichnen, als die ersten freilebenden Geschlechtstiere. Schon im Monat August waren fast nur langschwänzige Formen zu beobachten, und zwar fanden sich noch nicht ausgewachsene Geschlechtstiere in verschiedenen Entwickelungsstadien, geschlechtsreife Weibchen und Männchen und neugeborene Larven in großer Zahl. Die Vermehrung, die gegen Ende Juli etwas nachgelassen hatte, war sowohl am Anfang wie am Ende des Monats August wieder eine sehr rege.

Die Geschlechtstiere der II. Generation unterscheiden sich von denen der ersten nicht nur durch ihre sehr viel längere Schwanzspitze (Taf. I, Fig. 17), sondern sie differieren auch in ihrer Größe und in ihrer Organisation. Die erwachsenen Weibchen sind durchschnittlich bedeutend kleiner als die, welche direkt aus den Lungenembryonen hervorgegangen sind; die Vulva, die jetzt in der Mitte des Körpers gelegen ist, hat weniger wulstige Lippen; viele Weibchen enthalten nicht nur ein einzelnes, sondern gleichzeitig 2 zur Ablage reife Eier mit entwickeltem Embryo, und die Eier sind noch kleiner als die der ersten Generation. Bei den Larven und ausgewachsenen Geschlechtstieren ist der Schlundring sehr viel auffälliger sichtbar als in der ersten Generation, und ebenso die die Mundöffnung umstehenden braunen Stäbchen, die bei den erwachsenen Tieren, in Profil betrachtet, wie winzige Tastpapillen aussehen. Die Männchen, die auch bei der Augustgeneration vereinzelt gefunden werden, zeigen sich von denen der ersten Generation nur wenig verschieden. Die Nachkommen dieser zweiten Geschlechtsregeneration sind, wenn sie das Ei verlassen haben, von annähernd derselben Größe, wie die der ersten Generation, aber sie unter-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

scheiden sich von jenen durch ihren in eine längere Spitze ausgezogenen Schwanz.

Gegen Ende August wurden neben den langschwänzigen Formen auch wieder solche mit kurzem Schwanz beobachtet, und im Monat September hatte eine III. Generation mit kurzen Schwänzen die langschwänzige Augustgeneration vollkommen verdrängt. Es fanden sich im September wieder zahlreiche abgelegte Eier mit entwickelten Embryonen, ähnlich wie bei der ersten (Juni-Juli-)Generation. Auch im Oktober sah man in den verschiedenen Kulturschalen nur kurzschwänzige Larven. Im November und Dezember schienen die Nematoden in den Kulturen fast ganz verschwunden zu sein.

Nach dieser Zeit der Ruhe folgte im Januar wieder eine Periode reger Vermehrung, aber auch jetzt traten nur kurzschwänzige Formen auf; es waren wieder alle Entwickelungsstufen vertreten, von der eben geborenen Larve bis zum geschlechtsreifen Weibchen. Im Februar und März war wieder Entwickelungsstillstand; im April setzte aber aufs neue lebhafteste Vermehrung ein und in den Kulturen waren alle Stadien von der heranwachsenden Larve bis zum geschlechtsreifen Weibchen aufzufinden. Die Schwänze dieser VI. Generation waren von mittlerer Länge, daneben waren aber auch noch kurzschwänzige Larven zu sehen. Einem neuen Stillstand in der Vermehrung, den wir im Mai 1913 beobachtet haben, folgte im Juni ein sehr zahlreiches Auftreten langschwänziger Formen. Es fanden sich jetzt unter den geschlechtsreifen Weibchen neben solchen, deren Uterus bei der Augustgeneration im Vorjahre zwei Eier mit ausgebildeten Embryonen gleichzeitig enthielt, auch solche mit vier Embryonen. Diese Juniweibchen waren durchschnittlich größer als die Augustweibchen; die Vulva war noch etwas weiter nach vorn gerückt, so daß sie in der ersten Körperhälfte, aber nicht mehr genau in der Körpermitte lag, und der Oesophagus war relativ zum Körper noch kürzer geworden, mit anderen Worten, die hintere Körperhälfte war im Verhältnis zur vorderen schneller gewachsen.

Im Juli waren in den Kulturen die langschwänzigen Formen abermals verschwunden und von kurzschwänzigen verdrängt worden. Die Nematoden waren nicht sehr zahlreich vertreten, und es kam in diesem Jahr erst im Monat November wieder zu einer sehr regen Vermehrungstätigkeit. Es traten im November wieder ausschließlich langschwänzige Formen auf mit großen Weibchen, die bis zu acht reife Eier in ihrem Uterus enthielten. Die Geschlechtsöffnung war auch bei diesen Formen vor der Körpermitte, oder in der Körpermitte gelegen, die Oesophaguslänge betrug nur den 5., statt den 4. Teil der Körperlänge. Der Hautmuskelschlauch war erheblich dicker als bei den jüngeren Generationen, und die Cuticula mit einem Relief von feinen Gitterstreifen bedeckt, das aber nur bei sehr genauer Beobachtung zur Anschauung kommt. In einzelnen Präparaten werden bei diesen großen Weibchen unter dem Oesophagus die Ausmündungsstellen von feinen Kanälen sichtbar, die nach hinten geschlängelt verlaufen und wohl die Ausführungsgänge von Seitenorganen darstellen. Im November 1913 wurde eine Pause in der Entwickelung beobachtet, die bis zum Monat Februar 1914 währte. Im Februar zeigten sich wieder ziemlich zahlreiche Nematoden in den Kulturen. Die jüngeren Würmchen hatten einen langen, die älteren einen mittellangen Schwanz, und viele der größeren Larven fanden sich in Häutung oder hatten eine Cystenhülle

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gebildet. Geschlechtsreife Weibchen mit Eiern waren nur ganz vereinzelt vorhanden. Sie waren kleiner als die Novembergeneration; ihr Schwanz war kurz und nach innen gebogen, ähnlich wie bei der I. Generation vom Juni-Juli 1912. Auch im April fanden sich noch Larven und erwachsene Weibchen mit kurzen Schwänzen. Die erwachsenen Weibchen hatten nur 1 Ei im Uterus, und die Vagina war in der hinteren Körperhälfte in der Nähe der Körpermitte gelegen. Auch der Typus der Larven erinnerte an den der ersten Generation. Ende April und Anfang Mai war das regere Leben aus den Kulturen wieder verschwunden. Es folgte aber am Ende desselben Monats eine sehr stürmische Vermehrung der Nematoden. Diese XI. Generation, die aus einem nun 2-jährigen Stamm gezüchtet worden war, zeichnete sich, wie die Novembergeneration, durch besondere Größe aus. Es waren wieder langschwänzige Formen, und die Weibchen entsprachen sowohl in bezug auf ihre Organisation wie auf ihre Fruchtbarkeit den Weibchen der Novembergeneration.

Wenn wir die vorstehenden Resultate zusammenfassen, so können wir sagen, daß die aus den Lungenwurmknoten des Rehes auf sterilisierte Erde gebrachten Lungenwurmembryonen und Eier von Strongylus micrurus sich innerhalb von 4—6 Wochen zu einer geschlechtsreifen, freilebenden Generation entwickelten, deren Nachkommen beim Verlassen des Eies nicht den embryonalen Typus (Schwanzende, Darmkanal) der Eltern tragen, sondern sofort der elterlichen Larve, wie sie sich in der Kultur im Freien entwickelt, gleichen. Dieser Typus entspricht, im Kleinen natürlich, auch dem Typus der erwachsenen, parasitisch lebenden Geschlechtstiere, die wir in den Bronchien der wurmkranken Tiere vorfinden. Bis zur Erlangung der Geschlechtsreife scheinen sich die Larven wiederholt zu häuten; ich konnte indessen nicht feststellen, wie viele Häutungen normalerweise durchgemacht werden, da die Larven in der Erde verborgen leben und bei jedem Eingriff in ihre Gemütlichkeit mit der Bildung einer Cystenhülle bzw. einer neuen Cuticula und Abstoßung der alten reagieren.

Die aufeinander folgenden Generationen sind, wie wir sehen, verschieden groß und unterscheiden sich auch morphologisch voneinander. Besonders auffallend ist das Auftreten von kurzschwänzigen und langschwänzigen Generationen. Die Weibchen der kurzschwänzigen Formen unterscheiden sich von denen der langschwänzigen durch die Lage der Vulva. Während die Ausführungsgänge der Geschlechtsorgane bei den ersteren hinter der Körpermitte ausmünden, rückt die Ausmündungsstelle bei den langschwänzigen Formen in die Körpermitte oder vor dieselbe. Bei den kurzschwänzigen Weibchen trifft man im Uterus nur ein Ei an, während bei den langschwänzigen gleichzeitig mehrere bis zu 8 Eier mit Embryo entwickelt werden. Nach meinen Beobachtungen wächst die Zahl der Eier mit den Generationen, und es nimmt im Verhältnis zu ihrer Zahl die Größe der Eier ab.

Mit dem phyletischen Alter erfahren die Organe, die der Bewegung, der Nahrungsaufnahme, dem Schutz und der Empfindung dienen, eine kräftigere Entwicklung; es bildet sich der muskulöse Oesophagus und Pharynx, der Muskelschlauch, der Nervenring in jeder späteren Generation um so deutlicher, und die anfänglich glatte Cuticula wird derber und läßt an ihrer Oberfläche Streifung erkennen. Auch die Umgebung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Mundöffnung, die zuerst glatt erscheint und keine Tastorgane oder sonstige Mundorgane erkennen läßt, ist später von einem sehr deutlich sichtbaren, beweglichen System von Stäbchen umstellt, das durch eine zarte Membran verbunden wird. Es entsteht so ein beweglicher, kleiner Rüssel, der den Wurm zum Tasten, vielleicht auch dazu dienen kann, um sich einzubohren. Diese für das Leben des Wurmes außerhalb des Wirtstieres wichtigen Veränderungen treten nach und nach auf und vererben sich auf die Nachkommen in der Weise, daß schon die Larven von den Veränderungen Nutzen ziehen, die die erwachsenen Tiere der vorhergehenden elterlichen Generation erworben hatten.

Zeiten reichlicher Vermehrung wechseln mit oft monatelangen Pausen in der Entwickelung ab. Zu einem bestimmten Grad ist die Güte des Nährbodens für eine lebhaftere oder weniger lebhafte Fortpflanzung maßgebend, insofern wenigstens, als auch bei günstiger Jahreszeit in Kulturen, in denen das Gras abständig geworden ist, das Leben verschwindet. Im Freien wird die Jahreszeit eine entscheidende Rolle spielen, und zwar wird, nach den Erfahrungen an Zimmerkulturen zu urteilen, sowohl Trockenheit wie Kälte der Fortpflanzung Einhalt tun. Bei den Zimmerkulturen ist ein deutlicher Einfluß der Jahreszeiten nicht zu erkennen; es hat sich hier in den 2 ersten Jahren das Vermehrungsmaximum vom August in den November verschoben. Man kann sagen, daß bei im Zimmer gehaltenen und gut gepflegten Kulturen auf 4 Monate der Vermehrung 3 Monate der Ruhe folgen, daß dann wieder während eines Monats rege Fortpflanzung beobachtet wird und ein neuer Stillstand während 2 Monate folgt. Ob diese periodische Entwicklung, so wie ich sie beobachtet habe, nur zufällig ist oder einem gesetzmäßigen Zyklus entspricht, muß die weitere Beobachtung feststellen. Das eine scheint mir jetzt schon sicher zu sein, daß die freilebende Generation von Strongylus micrurus in der Lage ist, eine unabsehbare Reihe von Geschlechtern zu erzeugen, wenn die Entwickelungsbedingungen nur einigermaßen den Bedürfnissen des Wurmes entsprechen.

Kurze Zusammenstellung der Generationenfolge von Strongylus micrurus.

9. Mai 1912: Embryonen und Eier aus Lungenwurmknoten werden auf sterilisierte Erde ausgesät.

17.—19 Juni 1912: Vereinzelte Embryonen der Aussaat, Embryonen in Häutung, Larven jedes Entwickelungsstadiums, geschlechtsreife Männchen und Weibchen. Männchen selten. Viele abgelegte Eier. — I. freilebende Generation, kurzschwänzig.

24. Juni bis 16. Juli 1912: Larvenformen der ersten Generation verschwunden, vereinzelte sehr kleine Larven der II. Generation, außerdem Weibchen der ersten Generation mit Eiern. Vulva hinter der Körpermitte. Keine Männchen.

9.—31. Aug. 1912: Männchen und Weibchen der II. Generation, langschwänzig. Massenhafte Vermehrung. Larven aller Stadien, auch sehr kleine Larven der III. Generation. Weibchen meist mit 2 Eiern mit fertigen Embryonen. Vulva in der Mitte des Körpers.

Vereinzelt Larven mit kurzen Schwänzen (31. Aug.).

7. Sept. 1912: III. Generation, kurzschwänzig. Larven jeder Größe. Erwachsene Weibchen mit und ohne Eier. Kleine Männchen. Abgelegte Eier mit Embryonen.

5. Okt. 1912: IV. Generation, kurzschwänzig, sehr wenig kleine Larven.

Oktober bis Januar: Stillstand in der Vermehrung.

13.—18. Jan. 1913: V. Generation, kurzschwänzig. Larven jeder Größe bis zu erwachsenen Weibchen.

Februar bis April 1913: Stillstand in der Vermehrung.

14. April 1913: VI. Generation, mittellanger Schwanz. Vereinzelt noch kurzschwänzige Formen. Alle Larvenstadien, erwachsene Männchen und Weibchen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mai 1913: Stillstand in der Vermehrung.

3. Juni 1913: VII. Generation, langschwänzig, alle Larvenstadien, erwachsene Männchen und Weibchen. Weibchen mit mehr als 2 reifen Eiern.

18. Juli 1913: VIII. Generation, kurzschwänzig, Larven und erwachsene Geschlechtstiere, nicht sehr zahlreich.

August bis November 1913: Keine Vermehrung beobachtet.

25. Nov. 1913: IX. Generation, langschwänzig. Alle Entwickelungsstadien in großer Zahl. Die Weibchen tragen in den Uteri bis zu 8 Eier mit entwickelten Embryonen.

20. Febr. 1914: X. Generation, mittellanger Schwanz, vereinzelt kurzschwänzige Weibchen. Alle Entwickelungsstadien in nicht sehr großer Zahl. Im Uterus der seltenen Weibchen befinden sich keine Eier mit entwickelten Embryonen. Vulva bei den kurzschwänzigen Formen hinter der Körpermitte, bei den anderen in der Körpermitte. Männchen werden nicht beobachtet.

14. März 1914: Die Weibchen erscheinen jetzt in größerer Zahl, es ist noch der Typus mit mittellangem Schwanz. Im Uterus finden sich bei einzelnen 2 reife Eier.

April bis Mitte Mai 1914: Entwickelungsstillstand.

25. Mai 1914: XI. Generation, langschwänzig. Massenhafte Vermehrung. Weibchen mit mehr als 2 Eiern im Uterus. Sämtliche Larvenstadien. Die Weibchen sind die größten, die bisher beobachtet wurden. Geschlechtsöffnung hinter der Körpermitte, wie in der I. Generation.

II. Strongylus filaria.

Der in der parasitischen Geschlechtsgeneration dem St. micrurus am nächsten stehende Lungenwurm ist St. filaria. Auch ihre Wirte haben diese beiden Lungenwurmarten gemeinsam (Reh, Rind, Schaf, Hirsch). Die erste Gelegenheit, die Entwickelung von Strongylus filaria außerhalb des Wirtes zu studieren, bot sich mir im Frühjahr 1913. Ich erhielt am 6. März genannten Jahres die lungenwurmkranke Lunge eines Rindes aus Oberfranken, wo schon länger Lungenwurmseuche bei dem Weidevieh beobachtet worden war. Die Lunge war mit kleineren und größeren Wurmknoten durchsetzt, und es fanden sich in der Trachea und in den größeren Bronchien, von Schleim umhüllt, Bündel erwachsener Weibchen von Strongylus filaria. Die Lungenwurmknoten selbst enthielten große Mengen von Embryonen und Eiern desselben Lungenwurmes. Es wurden auf sterilisierte Erde zweierlei Kulturen angelegt, eine wurde mit Weibchen, deren Uterus mit embryonenhaltigen Eiern prall gefüllt war, beschickt, die andere mit den aus den Lungenwurmknoten stammenden Embryonen und Eier enthaltendem Material besät. Die Embryonen aus den Lungenwurmknoten entsprechen vollkommen den Formen, die in dem Uterus der Weibchen noch von der Eischale umschlossen waren. Dementsprechend vollzog sich auch die Entwickelung zu der freilebenden Geschlechtsgeneration in beiden Kulturen in derselben Weise.

Die im Uterus und in der Eischale eingeschlossenen Embryonen hatten größtenteils nach 24 Stunden die Eischale verlassen.

Die Eier von Strongylus filaria unterscheiden sich von denen von St. micrurus durch ihre langgestrecktere Gestalt, sie sind auch etwas größer als die Micrurus-Eier. Ihre Länge beträgt im Minimum 96, im Maximum 116 μ, ihre Breite 58—60 μ (St. micrurus 90—104 zu 60—78). Die Eischale ist ungefärbt und etwas dicker als bei Micrurus. Der Embryo ist, der Form des Eies entsprechend, weniger spiralig aufgerollt, sondern in enge Schleifen gelegt (Taf. II, Fig. 1a, 1c). Wie bei Micrurus, so finden sich auch bei Filaria Embryonen mit Granulationen, die sich durch Osmiumsäure schwarz färben, und nicht granulierte, bei derselben Konservierung leicht gelblich sich färbende Formen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Embryonen von Strongylus filaria unterscheiden sich von denen des St. micrurus sehr deutlich durch die Form ihrer Schwanzspitze. Bei Filaria ist dieselbe langgezogen, konisch zugespitzt; es fehlen die für Micrurus charakteristischen Attribute: Schwanzlappen und Schwanzstachel. Die Filaria-Embryonen gleichen den Larven von St. micrurus nach Abwerfen der Embryonalhaut (Taf. II, Fig. 8, 9 Micrurus), sind aber dicker als diese. Der Darm ist filariform wie bei Micrurus, die Mundöffnung kreisförmig und unbewaffnet. In der Ruhe sind die Filaria-Embryonen leicht nach der Bauchseite gekrümmt, ihr Hinterende ist nie spiralig aufgewunden wie das der beweglichen Micrurus-Embryonen.

Bereits 24 Stunden, nachdem die Filaria-Embryonen ausgesät waren, hatten sich fast alle in die Embryonalhaut zurückgezogen und lagen, von dieser umschlossen, wie in einer Cystenhülle. Bei einzelnen Würmchen konnte man jetzt schon die Anlage eines Schlundrings und die Bildung eines Oesophagus unterscheiden. Der Wunsch, die Larven aus den Embryonalhüllen schlüpfen zu sehen, erfüllte sich jedoch nicht, die Würmchen verblieben in ihrer Hülle und führten in und mit derselben lebhafte Bewegungen aus. Nach einiger Zeit zogen sie sich gerade so, wie wir es bei der Entwickelung von St. micrurus beobachtet haben, in die Graswurzeln zurück und konnten auch durch Anfeuchten der Kultur nicht mehr aus ihrem Versteck vorgelockt werden. Erst am 25. April, also 7 Wochen nach der Aussaat des Lungenmateriales, kamen nach dem Anfeuchten der Kulturen die Larven des St. filaria zum Vorschein. Wurden die Graswurzeln und die an ihnen haftende Erde ausgeschüttelt, so fanden sich außer diesen ersten Larvenformen auch kleinere Larven, die offenbar schon einer II. Generation angehörten. Weibchen und Männchen waren nicht aufzufinden. Die Filaria-Larven sind plumper als die Larven von Micrurus. Ihre Organisation ist aber in den Grundzügen mit der von St. micrurus identisch. Der zentral gelegene, unbewaffnete Mund führt in eine meist sehr deutlich begrenzte, zylindrische Mundhöhle, die in den Oesophagus übergeht, der, ebenso wie bei Micrurus, mit einem muskulösen Pharynx den Vorderdarm abschließt. Die Mundhöhle ist ebenfalls von braunen Stäbchen gestützt, die durch eine feine, einstülpbare Membran verbunden werden. Der Oesophagus ist sowohl bei den Filaria-Larven wie auch bei den später gefundenen erwachsenen Weibchen absolut genommen und relativ zur Körperlänge kürzer als bei Micrurus. Der Pharynx ist kugeliger und der daran ansetzende Darm in seinem ersten Abschnitt weniger stark verbreitert, wodurch der Mitteldarm von dem Vorderdarm deutlicher abgesetzt ist. Geschlechtsorgane waren bei den jüngeren Larven noch nicht zu sehen.

Den ganzen Sommer über war die Vermehrung des St. filaria in den Kulturen eine sehr wenig starke. Erst Anfang Juni kamen erwachsene, eierhaltige Weibchen zur Beobachtung und jüngere Stadien, bei denen die Geschlechtsorgane angelegt waren. Männchen wurden nicht gefunden. Das in Taf. II, Fig. 5 abgebildete Weibchen ist vom 3. Juni 1913; es gehört sehr wahrscheinlich schon einer II. freilebenden Generation an. Es ist etwas länger und breiter als die erwachsenen Weibchen der II. Generation von Micrurus und schließt in seinem Uterus, von dem man nur den nach hinten sich erstreckenden Teil sieht, ein Ei mit entwickeltem Embryo ein. Das Ei ist nur wenig kleiner als

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Micrurus-Eier der II. Augustgeneration. Da bei diesem Weibchen der Darm stark gefärbt ist, läßt sich die Anordnung der Geschlechtsorgane nicht erkennen. Die Vulva liegt, wie bei der kurzschwänzigen Generation, in der zweiten Körperhälfte; sie bildet eine schlitzförmige Oeffnung und ist von einer etwas vorspringenden Lippe begrenzt. Einen besseren Einblick in die Disposition der weiblichen Geschlechtsorgane geben uns die sehr zahlreich vorhandenen Weibchen jeden Alters aus den Kulturen vom 29. Febr. 1914. Das junge Weibchen auf Taf. II, Fig. 7 zeigt, daß es sich auch bei Filaria um eine paarige Anlage der Generationsorgane handelt. Die Einzelheiten sind am besten bei dem erwachsenen Weibchen auf Taf. II, Fig. 8 zu erkennen. Die Vulva, deren Ränder nur sehr wenig erhaben sind, führt in eine sehr kurze Vagina, die in einen paarigen Uterus übergeht. Wie bei Micrurus, setzt sich der Uterus nach hinten bzw. nach vorn bis zur Keimdrüse fort und erweitert sich ebenfalls vor dem Ovarium. Die Keimdrüsen erstrecken sich auch hier ein Stück weit gerade nach hinten bzw. vorn, biegen dann nach oben und vorn bzw. oben und hinten um und endigen, sich verjüngend, in der Mitte des Körpers. Wir treffen somit hier dieselben Verhältnisse an wie bei Micrurus, nur ist die ganze Anlage der Geschlechtsorgane bei St. filaria mehr in die Länge gezogen.

Die Weibchen der Februargeneration sind, wie wir aus den Figuren ersehen, durchschnittlich sehr viel größer als die der Junigeneration, und es zeigt sich auch hier, was wir bereits bei Micrurus, mit Ausnahme der I. Generation, beobachtet hatten, daß die späteren Generationen die vorhergehenden an Größe übertreffen. Die Filaria-Weibchen unterscheiden sich von den Micrurus-Weibchen durch ein schnell sich verjüngendes Hinterende und durch einen kürzeren und kräftigeren Schwanz. Die Uteruseier der Februargeneration von Filaria enthalten sämtlich keine fertigen Embryonen; die Eier werden offenbar schon vorher abgelegt; ihre Größe stimmt aber durchschnittlich mit den Eiern der Junigeneration überein. Die gleichzeitig im Uterus enthaltene Eierzahl schwankt, wenn wir die noch nicht beschalten Eier einrechnen, zwischen 2—6; es nimmt somit auch bei St. filaria die Fruchtbarkeit der späteren Generation zu.

In den Kulturen vom Februar 1914 wurden zum erstenmal Männchen beobachtet. Dieselben sind, wie bei Micrurus, erheblich kleiner als die Weibchen und an einem Paar gleich großer, über die Körperwand vorstehender, gekrümmter Spicula zu erkennen. Die Spicula sind ebenso gebaut wie die von St. micrurus, nur erscheinen sie etwas weniger gebogen als jene. Von der Kloakenwand führt der sehr feine Samenleiter nach dem Hoden, der auch hier als bandförmiges Organ über dem Darm liegt und in seinem hinteren Abschnitt große zellige Elemente enthält.

Von den Organen des Nervensystems ist bei St. filaria der Schlundring weniger gut sichtbar, als bei Micrurus.

Die Körpercuticula ist bei den Geschlechtstieren von St. filaria annähernd ebenso dick wie bei Micrurus. Der Muskelschlauch ist dagegen kräftiger entwickelt, als bei der verwandten Art. Man kann bei den Weibchen von Strongylus filaria bei stärkerer Vergrößerung auf der Innenseite der Cuticula sehr deutlich Vorragungen in Gestalt von sehr kleinen Zahnleisten erkennen, die den Muskelzellen als Insertionspunkte dienen. Durch diesen kräftiger entwickelten Hautmuskel-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schlauch erhält der Wurm das starrere Aussehen, das ihn von St. micrurus unterscheidet. Eine äußerlich sichtbare Streifung der Cuticula, die bei St. micrurus nach $1^1/_2$ Jahr aufgetreten ist, habe ich bei St. filaria noch nicht gesehen.

Aus den Eiern der freilebenden Generation von St. filaria entwickelten sich Larven, die, wie es auch bei St. micrurus der Fall ist, sehr viel kleiner sind als die zur Aussaat verwendeten Embryonen aus den Lungenwurmknoten, bzw. aus den Uteri der parasitischen Weibchen. Auch bei St. filaria besitzen diese Larven nicht den filariförmigen Darm der Embryonen, sondern einen durch die Pharynxanlage abgesetzten Vorderdarm, wie die erwachsenen Eltern. Je nach der Größe der Larven ist das Verdauungsorgan kräftiger oder weniger kräftig gebaut, was namentlich in der Entwickelung der Muskulatur des Vorderdarmes zum Ausdruck kommt.

Wenn wir die Entwickelungsreihen der beiden im vorstehenden beschriebenen Strongylus-Arten miteinander vergleichen, so kommen wir zu dem Schluß, daß die anfangs sehr verschiedenen parasitierenden embryonalen Ausgangsformen in ihrer weiteren Entwickelung zu freilebenden, geschlechtsreifen Nematoden sich außerordentlich ähnlich werden. Dies gilt besonders von den jeweiligen Larvenformen. Im geschlechtsreifen Zustande zeigen namentlich die Weibchen, wenn auch feine, so doch charakteristische Verschiedenheiten, die es ermöglichen, die beiden Arten voneinander zu trennen, namentlich im fixierten Zustand. In den Kulturen lebend, sind die beweglichen Nematoden sich so ähnlich, daß ein Auseinanderhalten der Arten sehr schwierig wird.

Zusammenstellung der Generationsfolge von Strongylus filaria.

6. März 1913: Embryonen und Eier aus Lungenwurmknoten von Rind werden auf sterilisierte Erde gebracht, ebenso parasitische, geschlechtsreife Weibchen, deren Uteri mit noch lebende Embryonen enthaltenden Eiern erfüllt sind.

7. März 1913: Die Embryonen haben sich in die Embryonalhaut zurückgezogen und liegen, von dieser umschlossen, wie in einer Cystenhülle. Bei einzelnen Embryonen ist die Anlage eines Vorderdarmes zu erkennen.

25. April 1913: Embryonen noch vorhanden, daneben aber die ersten Larven, von denen einzelne wieder in Häutung begriffen sind (Taf. I, Fig. 4). Außerdem finden sich sehr kleine Larven, die darauf schließen lassen, daß bereits Geschlechtstiere vorhanden waren. Diese Larven haben deutlich abgesetzten Vorderdarm.

3. Juni 1913: Außer verschiedenen Larvenstadien finden sich geschlechtsreife Weibchen mit embryohaltigem Ei. Die Vulva liegt hinter der Körpermitte. Der Schwanz endigt in einen langen, dünnen Faden.

Juni 1913 bis Februar 1914: Sehr spärliche Vermehrung.

20. Febr. 1914: Zahlreiche Weibchen. Im Uterus befinden sich bis zu 6 Eier, die aber keine fertigen Embryonen enthalten. Es werden zum ersten Male Männchen gefunden. Außerdem zahlreiche Larven aller Altersstadien.

Strongylus paradoxus.

Am 14. August 1912 erhielt ich zur Untersuchung die Lunge eines Wildschweines, das an Lungenwurmseuche erkrankt war. Der Inhalt der Wurmknoten wurde auf sterilisierte Erde verbracht, nachdem wir uns davon überzeugt hatten, daß in dem aus den Knoten ausgekratzten Schleim noch zahlreiche lebende Eier und Embryonen von Strongylus paradoxus enthalten waren.

Die Eier von Strongylus paradoxus sind von breitovaler Gestalt; einzelne haben vollkommene Kugelform. Sie sind durchschnittlich

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

größer als die von St. micrurus und St. filaria (Länge 116—120, Breite 80—116). Der Embryo ist in dem Ei entweder 8-förmig, oder als flache Spirale aufgerollt. Die Eischale ist dünner, als bei den im vorhergehenden beschriebenen Formen (Taf. III, Fig. 1, 2).

Der Embryo ist, der Größe des Eies entsprechend, auch erheblich größer, d. h. länger, als die Micrurus- und Filaria-Embryonen; er unterscheidet sich außerdem von diesen beiden durch sein knopfartig aufgerolltes Schwanzende, das, wie die noch im Ei enthaltenen Embryonen zeigen, aus der Verschmelzung eines sehr kleinen, nach innen gekrümmten Hakens hervorgeht (Taf. III, Fig. 1—4). Der embryonale Darm ist filariform.

Wie bei den früher beschriebenen Lungenwurmarten, so war auch bei St. paradoxus nicht unmittelbar nach der Aussaat der Embryonen und Eier auf sterilisierte Erde eine Umwandlung der Würmer zu beobachten. Die Embryonen zeigten sich anfangs sehr lebhaft, verkrochen sich aber bald in die Erde der Kultur und blieben darin bis Mitte September verschwunden. Um diese Zeit zeigten sich die ersten Larvenformen, die ich aber noch nicht konservierte, weil sie noch wenig zahlreich waren und ich die Weiterentwicklung durch ein Ausspülen der Schalen zu stören fürchtete. Im Oktober wurde der Kultur zum ersten Male Material entnommen. Es fanden sich jetzt Paradoxus-Larven verschiedensten Alters und verschiedenster Größe, Weibchen in allen Entwickelungsstadien mit kurzem Schwanzende und von diesen bereits abgelegte Eier mit entwickeltem Embryo (Taf. III, Fig. 5, 7). Wie ein Vergleich der Abbildungen zeigt, haben die Paradoxus-Larven erster Generation am meisten Aehnlichkeit mit den Larven erster Generation von St. micrurus, nur sind sie schlanker als diese. Der Oesophagus ist absolut länger, aber, auf die Körperlänge bezogen, relativ kürzer als bei St. micrurus. Auch die Schwanzspitze ist absolut länger als bei St. micrurus, sonst aber dieser sehr ähnlich gestaltet. Die Gliederung des Darmkanals in den Vorderdarm mit muskulösem Oesophagus und Pharynx, den Mitteldarm mit dunkel gefärbten Granulationen in den Wandzellen, und den Enddarm, der sich bei den erwachsenen Tieren kloakenartig erweitert, stimmt mit St. micrurus und filaria überein; der Vorderdarm ist weniger muskulös, als bei den anderen Wurmarten, und der Pharynx erscheint mehr langgestreckt. Bei einer älteren weiblichen Larve, bei der Vulva und Vagina bereits gebildet waren, lag die Geschlechtsöffnung hinter der Körpermitte, etwas weiter nach hinten verlagert als bei den erwachsenen Weibchen. Die Larven lassen alle einen kräftig ausgebildeten Schlundring erkennen. Die Körpercuticula ist zarter, als bei St. micrurus und zeigt bei manchen größeren Larven sehr feine Querstreifung.

Auch Ende Oktober waren Weibchen und Larven noch ziemlich zahlreich vorhanden. Neben den kurzschwänzigen Formen fanden sich jetzt auch solche mit längerem Schwanz. Diese waren in den Präparaten schlecht erhalten und zeigten in diesem Zustande eine deutlich quer geringelte Haut. Die kurzschwänzigen Weibchen hatten sich gut konserviert und eine glatte Cuticula.

Im Dezember 1912 wurden in den Kulturen zum ersten Male Männchen beobachtet (Taf. III, Fig. 8). Dieselben sind kleiner als die Weibchen und außerordentlich schlank. Die kurzen feinen Spicula sind kaum gebogen und liegen sehr viel weiter nach hinten als bei St. micrurus.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die mit den Männchen gleichzeitig erschienenen Weibchen waren wenig zahlreich. Auch die Larven hatten an Zahl abgenommen. Bis zum Monat Juni 1913 war in den Kulturen ein vollkommener Entwickelungsstillstand eingetreten. Am 10. dieses Monats fanden sich zum ersten Male wieder Weibchen mit Eiern, die einen entwickelten Embryo enthielten und kleine Larven. Die Vermehrung war aber keine lebhaftere, und die Weibchen enthielten nicht mehrere, sondern nur ein einziges Ei. So blieb es auch während der zweiten Hälfte des Jahres 1913. Erst im Februar 1914 ließ sich aus den so lange stillgestandenen Kulturen reichlicheres Material gewinnen. Männchen waren in demselben nicht enthalten, wohl aber mehrere geschlechtsreife Weibchen mit Eiern. Die größten der erwachsenen Weibchen hatten die Mittelgröße der Micrurus-Weibchen; sie waren langschwänzig. Die Anlage der Geschlechtsorgane war wie bei St. micrurus, die Vulva lag hinter der Körpermitte. Die in dem Uterus gelegenen Eier enthielten meist noch nicht völlig entwickelte Embryonen (Taf. III, Fig. 11). Es fanden sich aber auch solche Weibchen, in denen bis zu 4 Embryonen völlig ausgebildet waren. Die Eier waren größer als die intrauterinen Eier der späteren Paradoxus-Generationen, aber kleiner als die Eier von St. micrurus und filaria (Paradoxus-Eier = 53 μ, Micrurus-Eier = 45—53 μ, Filaria-Eier = 60—70 μ). Die Weibchen unterscheiden sich von denen des Strongylus micrurus durch zierlicheren Körperbau; ihr Hinterende spitzt sich nicht so allmählich zu, wie bei St. micrurus, sondern ist in ähnlicher Weise abgeschrägt, wie bei St. filaria, und endigt in einen sehr dünnen Schwanzfaden.

Bei den erwachsenen Weibchen, wie auch bei den Larven ist der Schlundring sehr gut sichtbar.

Im März 1914 fand sich ein Weibchen, das etwas kleiner als die Februarweibchen war und in seinem Uterus ein in 2 Furchungskugeln zerfallenes Ei enthielt. Sein Schwanz war relativ kürzer als der der Februargeneration, jedoch sind die Unterschiede in der Schwanzlänge nicht so bedeutend, wie wir sie bei St. micrurus beobachtet haben. Die Larven, die aus den von den verschiedenen freilebenden Generationen abgelegten Eiern von St. paradoxus hervorgehen, verhalten sich in bezug auf ihre Organisation genau so, wie die Larven von St. micrurus und filaria; sie haben einen in Vorderdarm, Mitteldarm und Enddarm gegliederten Darmkanal und sind erheblich kleiner als die Embryonen aus der Lunge, aus denen sich deren Eltern bzw. Großeltern entwickelt haben.

Nach meinen bisherigen Beobachtungen vermehren sich die freilebenden Generationen von St. paradoxus viel weniger rasch als die des St. micrurus und filaria, und wir werden sehen, daß in dieser Hinsicht St. paradoxus mit St. commutatus, dem Wurm der Hasenlunge, übereinstimmt.

Generationsfolge von Strongylus paradoxus.

14. Aug. 1912: Embryonen und Eier aus der Lunge des Wildschweines werden auf sterilisierte Erde gebracht.

Mitte September 1912 zeigen sich die ersten Larven.

5. Okt. 1912: Embryonen der Aussaat sind noch vorhanden; sie sind länger und haben Pharynxanlage. Außerdem finden sich jetzt zahlreiche Weibchen mit kurzem Schwanz von verschiedenster Größe, I. freilebende Generation. Auch von diesen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

abgelegte Eier mit entwickeltem Embryo sind vorhanden und kleine Larven der II. Generation.

26. Okt. 1912: Zahlreiche Weibchen und Larven I. und II. Generation. Weibchen teils mit kurzem, teils mit langem Schwanz, sehr schlanke, kurzschwänzige Larven, wahrscheinlich Männchen.

2. Dez. 1912: Erwachsene Männchen. Wenig zahlreiche kleine Larven. III. Generation.

Januar bis Juni 1913: Entwickelungsstillstand.

10. Juni 1913: Langschwänzige, geschlechtsreife Weibchen mit einem Ei, einen entwickelten Embryo enthaltend. IV. Generation.

Juli 1913 bis Februar 1914: Entwickelungsstillstand.

20.—29. Febr. 1914: Weibchen mit langem, spitzem Schwanz und mehreren, bis zu 4 Eiern mit entwickelten Embryonen. Larven verschiedenster Größe. V. Generation.

25. März 1914: Wie im Februar.

April bis Mai 1914: Entwickelungsstillstand.

25. Juni 1914: Zahlreiche Weibchen und Larven mit kurzem Schwanz. VI. Generation.

Strongylus commutatus.

Die erste Kultur, um die Entwickelung der freilebenden Generationen des Strongylus commutatus zu studieren, wurde im Oktober 1912 angelegt. Der damals aus der Lunge des Hasen gewonnene Nematodenstamm hat sich, wie die der anderen Lungenwurmarten, bis heute fortgepflanzt.

Die Eier von Strongylus commutatus sind in ihrer Form denen des Strongylus micrurus am ähnlichsten, aber erheblich größer als diese. Obwohl die parasitisch in der Hasenlunge lebenden Geschlechtstiere viel kleiner sind als die des St. micrurus, filaria und paradoxus, so übertreffen die von diesen Weibchen abgelegten Eier dennoch alle anderen beträchtlich an Länge. Die längsten Commutatus-Eier, die ich angetroffen habe, maßen 136 μ, während die maximale Eilänge bei St. micrurus 104, bei St. filaria 116 und bei St. paradoxus 120 μ betrug (Taf. III, Fig. 1a, 1b).

Die Embryonen der Commutatus-Eier sind, wie bei den anderen Lungenwurmarten, zum Teil mit Granulationen erfüllt, die sich durch Osmium schwärzen; zum Teil sind sie gleichmäßig gelb gefärbt. Auch die aus dem Ei geschlüpften Würmer scheiden sich in beweglichere, nicht granulierte Formen und in schwerfälligere Embryonen mit dunkel gefärbten Massen in ihrem Innern.

Trotz der großen Eier sind die Commutatus-Embryonen kleiner als die der bisher betrachteten Lungenwurmarten (Taf. III, Fig. 2a). Ihr Schwanzende ist in eine sehr charakteristische, kommaförmig gebogene Spitze ausgezogen. Bei einzelnen Embryonen findet man schon auf dieser Entwickelungsstufe die Andeutung einer Scheidung des Darmkanals in Vorder- und Mitteldarm. Noch am 8. November, also 3 Wochen nach der Aussaat, fanden sich Embryonen in der Kultur, die wohl etwas länger geworden waren, aber sonst noch die embryonalen Merkmale zeigten; im Januar 1913 wurden die ersten Larven beobachtet. Diese waren sehr viel zierlicher als die der bisher beschriebenen Lungenwurmarten (Taf. III, Fig. 6), die Muskulatur des Oesophagus war noch kaum zu erkennen, und ein Pharynx war eben angedeutet. Die Schwanzspitze war ungefähr ebenso lang wie beim Embryo, hatte aber die doppelt gebogene, kommaartige Spitze verloren; sie war jetzt gleichmäßig etwas nach innen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gekrümmt. Gleichzeitig fanden sich in der Kultur auch Weibchen, die die Anlage von Geschlechtsorganen erkennen ließen, mit einer hinter der Körpermitte gelegenen Vulva (Taf. III, Fig. 4). Sehr viel kleinere Larven, als die aus den Embryonen hervorgegangenen, ließen darauf schließen, daß sich aus dem Lungenmaterial bereits eine Geschlechtsgeneration entwickelt hatte und daß schon eine Vermehrung erfolgt war. Eierhaltige Weibchen wurden aber erst im Februar 1914 beobachtet (Taf. III, Fig. 5a).

Wärend die Vermehrung des St. commutatus bis dahin eine sehr langsame war, traten nun plötzlich Weibchen und Larven in großer Zahl auf. Auch im März blieb die Fortpflanzung eine sehr rege. Männchen hatten sich noch nicht vorgefunden.

Durch ihre geringe Größe sind die Commutatus-Weibchen gut von denen der anderen Lungenwürmer zu unterscheiden (Taf. III, Fig. 9). Die Anordnung ihrer Geschlechtsorgane ist der der beschriebenen Arten sehr ähnlich, Vulva und Vagina gleichen in ihrem Bau am meisten dem St. micrurus. Wir haben bisher nur Weibchen mit einem Uterusei angetroffen; das Ei entsprach in der Größe den kleinsten Micrurus-Eiern. Das Hinterende des erwachsenen Weibchens ist nicht abgeschrägt, wie bei St. filaria und paradoxus, sondern es spitzt sich langsam zu, wie ich es bei St. micrurus beschrieben habe. Auch bei St. commutatus finden wir eine große Variabilität in der Schwanzlänge. Während die Januargeneration 1913 einen sehr kurzen Schwanz besaß, war derselbe bei der Februargeneration 1914 in einen langen Faden ausgezogen. Auch die Nachkommen dieser Weibchen hatten aus Larven einen viel längeren Schwanz als die Larven der Januargeneration des Vorjahres.

Ein Schlundring ist bei allen Altersstadien der freilebenden Generation von Strongylus commutatus deutlich ausgebildet.

Zusammenfassend können wir sagen, daß Strongylus commutatus sich auch als freilebende Generation von denen der übrigen Lungenwurmarten durch seine geringere Größe deutlich unterscheidet. Verschiedene Eigentümlichkeiten seiner Organisation erinnern an Strongylus micrurus.

Generationsfolge von Strongylus commutatus.

17. Okt. 1912: Embryonen und Eier aus der Lunge des Hasen werden auf sterilisierte Erde gebracht.

8. Nov. 1912: Die Embryonen sind etwas länger geworden.

18. Jan. 1913: Larven und Weibchen I. Generation mit kurzem Schwanz. Junge Larven der II. Generation.

Februar 1913 bis Februar 1914: Entwickelungsstillstand bzw. sehr spärliche Vermehrung.

20. Febr. 1914: Zahlreiche Larven und Weibchen mit langem Schwanz; die Weibchen enthalten ein Ei mit entwickeltem Embryo (III. Generation).

1—7. März 1914: Wie im Februar.

24. Juni 1914: Weibchen und Larven in größerer Zahl mit mittellangem Schwanz (IV. Generation).

Strongylus capillaris.

Durch ein für mich sehr günstiges Zusammentreffen gelangte ich Ende März dieses Jahres in den Besitz einer durch Strongylus capillaris infizierten Ziegenlunge. Die erkrankten Stellen der Lunge

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wurden ausgekratzt und die in dem Schleim enthaltenen, sehr zahlreichen Eier und lebenden Embryonen auf sterilisierte Erde gebracht.

Die Capillaris-Eier sind von denen der übrigen Lungenwurmarten sehr deutlich verschieden, weil ihre Gestalt eine länglich-ovale ist, noch viel mehr in die Länge gezogen als die Eier von Strongylus filaria. Der Embryo ist, zu einer engen Schleife gefaltet, in dem Ei eingebettet (Taf. IV, Fig. 2). Die ausgeschlüpften Embryonen sehen denen von St. micrurus sehr ähnlich, weil auch sie, wie St. micrurus, einen kleinen Schwanzlappen und am Grunde desselben einen Schwanzstachel besitzen. Der Schwanzlappen und Stachel ist aber bei St. capillaris etwas länger als bei St. micrurus, und der Lappen hat außerdem eine doppelte Biegung, so daß er an die Schwanzspitze von St. commutatus erinnert (Taf. IV, Fig. 5). Die Capillaris-Embryonen sind auch kleiner als die von St. micrurus, was aber bei Beobachtung der lebenden Parasiten in dem Lungenschleim kaum auffällt. Erst wenn die kleinen Nematoden fixiert und gezeichnet sind, werden diese Unterschiede deutlich. Der Darmtraktus ist bei den Embryonen von St. capillaris filariform, wie bei allen übrigen Arten. Wie bei den im vorhergehenden beschriebenen Lungenwurmarten, so finden sich auch bei St. capillaris dunkel granulierte Eier und nicht granulierte, und granulierte unbewegliche und nicht granulierte bewegliche Embryonen.

Bis Ende April war keine bedeutende Veränderung der Embryonen in den Kulturen wahrzunehmen; die anfangs sehr lebhaften Nematoden hatten sich, wie immer, in die Erde und die Graswurzeln zurückgezogen, waren etwas größer geworden, trugen aber noch immer embryonalen Charakter. Ende April fand ich beim Ausschütteln und Abspülen der Graswurzeln neben überwiegend embryonalen Formen (Taf. IV, Fig. 6, 7, 15) solche, die ihre Embryohülle mit Schwanzlappen und Stachel abgestreift hatten und auch in der Gliederung ihres Darmkanales Larvencharakter zeigten. Es fanden sich auch Embryonen, die in dieser Metamorphose begriffen waren. Die Larven zeigten sich noch so vereinzelt, daß ich sie nicht konservierte, sondern die Kulturen bis zum 13. Mai unberührt ließ, um die Weiterentwickelung nicht zu stören.

Am 13. Mai hatte die Zahl der Larven zugenommen. Sie waren zum Teil kleiner, zum Teil schon größer als die Embryonen, hatten einen ziemlich spitzen, langen Schwanz und ein in Vorderdarm und Mitteldarm differenziertes Verdauungsrohr. Entsprechend der Gestalt der Embryonen, waren auch die Larven sehr viel schlanker und kleiner als die der anderen freilebenden Lungenwürmer. Diese Larven wuchsen schnell heran, und am 29. Mai fanden sich bereits geschlechtsreife Weibchen, die in ihrem Uterus nicht nur ein Ei enthielten, wie wir es bei der ersten freilebenden Generation der anderen Lungenwurmarten beobachtet hatten, sondern eine Anzahl mehr oder weniger weit entwickelter Eier (Taf. IV, Fig. 10, 16).

Ueber die Anordnung der Geschlechtsorgane beim Weibchen ist nichts Weiteres zu sagen, da diese bei St. capillaris im wesentlichen mit der bei den anderen Lungenwurmarten übereinstimmt. In bezug auf ihre Länge übertreffen diese fruchtbaren Weibchen die längsten Formen von St. micrurus ganz erheblich; ihr Körper ist aber weniger breit. Der Schwanz endigt in einen langen, spitzigen Schwanzfaden,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und das Hinterende des Körpers spitzt sich langsam zu. Der Mund ist in derselben Weise von Stäbchen umstellt, wie bei St. micrurus, führt in einen muskulösen Oesophagus, der in einen länglich gebauten Pharynx übergeht. Die Vulva ist wenig hinter der Körpermitte gelegen, ihre Lippen sind etwas vorgewölbt und erinnern darin an St. micrurus.

Männchen habe ich bis jetzt noch nicht gefunden, wohl aber kleine Larven, die als Nachkommen der Weibchen der I. Generation anzusehen sind und den elterlichen Charakter tragen. Sie zeichnen sich von den Larven der anderen Lungenwurmarten durch ihre außerordentlich große Schlankheit aus (Taf. IV, Fig. 11, 18, 19).

Die Vermehrung der freilebenden Capillaris-Generation ist eine sehr schnelle und die Fruchtbarkeit der Weibchen übertrifft die der anderen Lungenwurmarten erheblich. Ende Mai, also bereits in der II. Generation traten Weibchen mit 11 Eiern im Uterus auf, die fertig entwickelte Embryonen einschlossen. Auch in ihrem Längenwachstum übertrifft diese Lungenwurmart bis jetzt alle anderen.

Generationsfolge von Strongylus capillaris.

19. März 1914: Embryonen und Eier aus der Ziegenlunge werden auf sterilisierte Erde gebracht.

23. April 1914: Die Embryonen sind gewachsen; es finden sich aber noch keine Larven.

27. April 1914: Zwischen den Graswurzeln treten die ersten Larven auf.

15. Mai 1914: Zahlreiche geschlechtsreife Weibchen, I. Generation. Dieselben haben im Uterus bis zu 11 fertige Embryonen enthaltende Eier. Larven der II. Generation.

15. Mai 1914: Zahlreiche Larven mit langem, spitzem Schwanz.

19. Juni 1914: Neben vereinzelten großen Weibchen der I. Generation mit langem Schwanz kurzschwänzige Larven und Weibchen der II. Generation.

Unterscheidungsmerkmale der beschriebenen Lungenwurmarten als Eier, Embryonen und freilebende Generationen.

Die Eier der parasitischen Generationen der verschiedenen Lungenwurmarten, die sich in der Lunge der erkrankten Tiere vorfinden, unterscheiden sich voneinander in Größe und Form so deutlich, daß man bei genauer Vergleichung die Art erkennen kann, der sie angehören. Am meisten sehen sich die Eier von St. micrurus und filaria ähnlich. Sie sind nahezu gleich groß, aber die Eier von St. filaria sind etwas länglicher geformt als die Micrurus-Eier; größer als die von St. micrurus und St. filaria sind die unter sich annähernd gleichlangen Eier von St. paradoxus, St. commutatus und St. capillaris. Die Eier von St. paradoxus aus der Schweinelunge sind fast kugelförmig, so daß sie von den länglich-ovalen Formen der beiden anderen Arten deutlich abweichen. Im Gegensatz zu St. paradoxus, sind die Eier von St. capillaris typisch langoval, während die Eier von St. commutatus in ihrer Gestalt mehr die breite Micrurus-Form zeigen; sie sind aber länger und breiter als diese. Auch die Lage des Embryos im Ei ist für die einzelnen Lungenwurmarten charakteristisch und der Form des Eies angepaßt.

Die von den freilebenden Weibchen abgelegten Eier sind sehr viel kleiner als die der parasitischen Generationen. Im allgemeinen werden sie um so kleiner, je größer die Zahl der gleichzeitig im Uterus liegenden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

reifen Eier ist. Am größten sind die Eier der freilebenden Generation von St. capillaris, am kleinsten die von St. commutatus. Die Capillaris-Eier sind auch die schmalsten von allen.

Je mehr Eier gleichzeitig im Uterus der Weibchen entwickelt werden, desto kleiner sind ihre Dimensionen.

Die Embryonen der verschiedenen Lungenwurmarten in der Lunge der Wirtstiere unterscheiden sich sehr deutlich durch die charakteristische Form des embryonalen Schwanzendes, durch ihre Größe und ihre schlankere oder weniger schlanke Gestalt.

Die Embryonen von St. micrurus und St. capillaris sind durch einen kommaförmig gestalteten Schwanzlappen und einen kleinen Schwanzstachel ausgezeichnet. Beide Anhänge sind bei St. capillaris länger als bei St. micrurus. Der Schwanzlappen bei St. capillaris ist außerdem doppelt kommaförmig gebogen, ähnlich wie das Schwanzende der Commutatus-Embryonen, denen aber der Schwanzstachel fehlt. Die Schwanzspitze der Embryonen von St. paradoxus ist abgeschrägt und knopfförmig aufgerollt. Einen pfriemenförmig auslaufenden Schwanz haben die Embryonen von St. filaria, die sich sonst von St. micrurus sehr wenig unterscheiden. Am längsten sind die Embryonen von St. paradoxus, von mittlerer Dimension sind die von St. micrurus und St. filaria; es folgt der Größe nach St. commutatus, am kleinsten sind die Capillaris-Embryonen, die, wie schon erwähnt, in der Gestalt der Schwanzlänge viel Aehnlichkeit mit St. micrurus haben. In der mittleren Breite unterscheiden sich die verschiedenen Lungenwurm-Embryonen nur wenig. Vor ihrer Verwandlung zur Larve nehmen alle Embryonen an Länge zu, ziehen sich aber vor dem Abstreifen der Embryonalhaut zusammen und sind nach dem Verlassen der Hülle kleiner als vor der Häutung.

Die aus den Embryonen nach der Häutung hervorgegangenen Larven haben die charakteristischen Artunterschiede der Embryonen verloren. Die verschiedenen Lungenwurmarten sind in diesem Entwickelungsstadium kaum voneinander zu unterscheiden. Sie haben alle statt des filariförmigen Darmes einen in Vorderdarm, Mitteldarm und Enddarm geschiedenen Verdauungskanal. Der Oesophagus ist bei den jüngsten Larven im Verhältnis zum Körper sehr lang, wird aber im Verlauf der weiteren Entwickelung relativ kürzer, durch rascheres Wachstum des hinteren Körperabschnittes. Die Länge der Schwanzspitze ist bei den Larven der I. Generation von der des Embryos nicht sehr verschieden, nimmt aber im allgemeinen in der späteren Generationsfolge an Länge zu. Bei St. micrurus wechseln kurzschwänzige und langschwänzige Generationen miteinander ab. Auch bei den anderen Lungenwurmarten finden sich im Laufe der Entwickelung langschwänzige und kurzschwänzige Generationen; die Unterschiede sind aber nicht so ausgesprochen wie bei St. micrurus. Im Verhältnis zur Körperlänge wird der Schwanz der freilebenden Lungenwurmlarve innerhalb einer und derselben Generation regelmäßig kürzer. Den größten Wechsel in der Schwanzlänge habe ich bis jetzt in der Generationsfolge von St. micrurus und St. commutatus beobachtet.

Die geschlechtsreifen Weibchen der freilebenden Generationen der verschiedenen Lungenwurmarten unterscheiden sich voneinander durch ihre durchschnittliche Größe, ihre Gestalt und die Form ihres

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Schwanzendes; auch der Pharynx ist bei der einen mehr kugelig, bei der anderen mehr länglich-oval gestaltet. Bei den Lungenwurmarten mit kugeligem Pharynx geht der Vorderdarm in den sofort sehr stark verbreiterten Mitteldarm über, während bei den Wurmarten mit länglichem Pharynx zwischen diesem und dem später verbreiterten Darmrohr ein schmäleres Zwischenstück eingeschaltet ist.

Im übrigen sind die Weibchen der freilebenden Generationen der verschiedenen Lungenwurmarten sehr ähnlich gebaut. Die Geschlechtsöffnung liegt hinter der Körpermitte, nur bei der sehr langschwänzigen II. Generation von St. micrurus ist sie in die Mitte des Körpers gerückt. Die Vulva hat glatte Ränder oder wulstige Lippen; da diese Unterschiede aber innerhalb derselben Art bei verschiedenen Generationen auftreten können, so sind sie nicht als konstante Unterscheidungsmerkmale der Arten anzusprechen. Am meisten zur Bildung wulstiger Erhebung der Vulvaränder neigen St. micrurus und St. capillaris. Uterus und Ovarium sind bei allen Arten paarig, und auch die Anordnung der Keimdrüsen und ihrer Ausführungsgänge ist übereinstimmend. Die größten Weibchen, die über ein Millimeter maßen, haben sich bei St. capillaris gefunden, und zwar schon in der I. Generation. Diesen zunächst stehen die Weibchen von St. micrurus der XII. Generation. Wenn wir nur die Durchschnittsmaße berücksichtigen, so entsprechen sich in ihrer Größe St. commutatus und micrurus, auf der anderen Seite die etwas längeren St. paradoxus und filaria; St. capillaris ist im geschlechtsreifen Zustand durchschnittlich sehr viel größer als die übrigen Arten. Die Weibchen der ersten Generationen, die sich aus den parasitischen Embryonen entwickelten, sind weniger fruchtbar als die der späteren Generationen, bei denen die Zahl der im Uterus gleichzeitig reifen Eier konstant zunimmt. Bei St. micrurus stieg die Eierzahl innerhalb einer Entwickelungszeit von $1^1/_2$ Jahr in der IX. Generation von 1 auf 8. Bei St. capillaris produzierte aber die I. Generation bis zu 11 Eier. Der Lungenwurm des Schweines und des Hasen ist als freilebende Generation weniger fruchtbar; wir haben hier nie mehr als 3 reife Eier gleichzeitig beobachtet. Die ersten Generationen der verschiedenen Lungenwurmarten scheinen ihre Eier ohne fertig entwickelten Embryo abzulegen, bei den späteren ist der Embryo schon im Uterus ausgebildet.

Von den erwachsenen Männchen sehen sich diejenigen von St. micrurus und filaria am ähnlichsten; sie sind gleich lang und breit, die Männchen von St. micrurus scheinen aber einen etwas längeren Oesophagus und etwas längere Spicula zu besitzen; ihre Schwanzspitze ist dagegen kürzer als bei der verwandten Art. Der Hoden ist einfach und steht mit einem Samenleiter in Verbindung, der in geschlängelter Linie bis in die Kloake verläuft. Kleinere Dimensionen haben die Männchen von St. paradoxus; sie haben einen unverhältnismäßig langen Oesophagus, langen Schwanz und sehr kurze, wenig gebogene Spicula.

Von St. commutatus und capillaris sind bis jetzt noch keine Männchen zur Beobachtung gekommen; auch bei den anderen Arten kommen Männchen nur selten zur Erscheinung, so daß es fraglich ist, ob die beobachteten Unterschiede nur individueller Natur, oder als Artmerkmale anzusehen sind.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	Strongylus micrurus	Strongylus filaria	Strongylus paradoxus	Strongylus commutatus	Strongylus capillaris
	in Mikra				
Parasitische Eier aus der Lunge.					
Länge	90—104, Mittel 100	96—116, Mittel 100	116—120, Mittel 116	116—136, Mittel 120	112—125, Mittel 120
Breite	60—78, „ 60	58—60, „ 58	80—116, „ 112	70—78, „ 74	50—58, „ 54
Länge : Breite	16 : 10	17 : 10	10 : 10	16 : 10	2 : 1
Eier der freilebenden Generation.					
Länge	45—73, Mittel 60	52—70, Mittel 58	52—53, Mittel 53	49	58—75, Mittel 66
Breite	29—45, „ 34	32—36, „ 32	24—32, „ 28	29	25—33, „ 29
Länge : Breite	17 : 10	18 : 10	19 : 10	17 : 10	23 : 10
Embryonen der parasitischen Generation aus der Lunge.					
Länge	280—432, Mittel 360	316—410, Mittel 404	504	354	241—350, Mittel 266
Breite	25	20	20	25	20—25, „ 20
Länge : Breite	14 : 1	20 : 1	25 : 1	14 : 1	13 : 1
Neugeborene Larven der freilebenden Generation.					
Länge	196—255, Mittel 233	230—270, Mittel 258	308—312, Mittel 310	187—204, Mittel 187	241
Breite	8—16, „ 12	13, „ 13	16	13	8—12
Oesophaguslänge	92—112, „ 108	60—100, „ 80	128	66—78, „ 66	83
Länge : Oesophaguslänge	2 : 1	3 : 1	2,4 : 1	3 : 1	2,6 : 1

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

	Strongylus micrurus	Strongylus filaria	Strongylus paradoxus	Strongylus commutatus	Strongylus capillaris
	in Mikra				
Erwachsene freilebende Weibchen.					
Länge	634—1000, Mittel[1]) 750	758—929, Mittel 820	762—879, Mittel 837	645—729, Mittel 712	1070—1210, Mittel 1124
Breite	30—46, „ 41	40—45, „ 41	32—41, „ 39	25—37, „ 37	45—50, „ 42
Oesophaguslänge	128—212, „ 172	170—208, „ 187	170—207, „ 179	146—163, „ 163	216—262, „ 259
Vulvaabschnittlänge	283—545, „ 400	399—508, „ 416	400—487, „ 441	321—441, „ 381	562—600, „ 580
Schwanzspitzenlänge	46—120, „ 90	83—116, „ 103	75—97, „ 93	48—120, „ 120	120—145, „ 132
Länge : Oesophagus	4 : 1	4 : 1	4,6 : 1	4 : 1	4 : 1
Länge : Vulvaabschnitt	19 : 10	19 : 10	19 : 10	18 : 10	19 : 10
Länge : Schwanzspitzenlänge	8 : 1	8 : 1	9 : 1	6 : 1	8,8 : 1
Intrauterinäre Eierzahl.					
	1912 Juli 1; 1912 August 2; 1913 Juni 4; 1913 November 8; 1914 Mai 3	1913 Juni 1; 1914 Februar 6	1913 Juni 1; 1914 Februar 4	1914 Februar 1	1914 April 2; 1914 Mai 3; 1914 Juni 11
Erwachsene Männchen.					
Länge	650	629—650, Mittel 639	520		
Breite	25	25, „ 25	16		
Oesophaguslänge	175	160—175, „ 162	158		
Schwanzspitzenlänge	46	54—58, „ 56	58		
Spiculalänge	25	20, „ 20	8		
Länge : Oesophaguslänge	3,6 : 1	4 : 1	3 : 1		
Länge : Schwanzspitze	14 : 1	11 : 1	9 : 1		

1) Als Mittelwerte sind die am häufigsten vorkommenden Maße bezeichnet.

Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Zusammenfassung.

Aus den vorstehenden Ausführungen geht hervor, daß sich die Embryonen sämtlicher hier behandelter Lungenwurmarten, wenn sie aus der Lunge des Wirtstieres entnommen und auf sterilisierte, mit Grassamen bestellte Erde gebracht werden, in Larven verwandeln und zu einer mikroskopisch kleinen Geschlechtsgeneration entwickeln. Das Verhalten der in die Kultur verbrachten Embryonen bis zu ihrer Larvenhäutung ist bei allen Arten übereinstimmend; sie werden unbeweglicher, ziehen sich in die Erde, namentlich in das feine Wurzelwerk des sprossenden Grases zurück und werfen nach 5—6 Wochen die embryonale Haut mit ihren für die einzelne Art charakteristischen Attributen ab. Strongylus filaria unterscheidet sich von den übrigen Lungenwurmarten dadurch, daß er sich schon oft nach 24 Stunden in seine embryonale Haut wie in seine Cystenhülle zurückzieht. Bis zu ihrer Häutung nehmen die Embryonen an Länge zu, und man beobachtet meist schon im embryonalen Zustande eine beginnende Differenzierung des Vorderdarmes. Die gehäuteten Embryonen, d. h. die aus ihnen hervorgegangenen kleinen Larven sind kleiner, als es die Embryonen vor ihrer Häutung waren, wachsen aber schnell heran. Die größten sichtbaren Veränderungen vollziehen sich bei der jungen Larve in ihrem Darmkanal, der nicht mehr filariform ist, wie bei den Embryonen, sondern in Vorder- und Mitteldarm gegliedert erscheint. Bei älteren Larven und heranwachsenden Weibchen ist auch der Enddarm mit weiter Kloake von dem resorbierenden Mitteldarm zu unterscheiden. Die kleinen Larven wachsen, wenn die Bedingungen günstig sind, in sehr kurzer Zeit zu Geschlechtstieren heran. Wie oft sie sich dabei häuten, ist schwer zu bestimmen, da sie auf die verschiedensten äußeren Einflüsse mit Cystenbildung antworten. Die weiblichen Larven sind zuerst an der Vulvaanlage zu erkennen, die männlichen an den Spicula. Die Weibchen übertreffen die Männchen weitaus an Zahl. Die Männchen sind so selten, daß ich sie bei St. commutatus und St. capillaris noch nicht aufgefunden habe. Bei den weiblichen Tieren aller hier untersuchten Lungenwürmer war die Anordnung der Geschlechtsorgane im Prinzip die gleiche. Die Vulva liegt etwas hinter der Körpermitte und führt in eine kurze Vagina. Diese gabelt sich in einen paarigen Uterus, der auf jeder Seite mit einer Keimdrüse in Verbindung steht, die je nach Entwickelungszustand ein kompaktes Zellager bildet und sich in einen feineren Strang fortsetzt, der beiderseits umbiegt und nach der Körpermitte verläuft. Die ersten fortpflanzungsfähigen Weibchen treten in den Kulturen 5—6 Wochen nach der Aussaat der Lungenembryonen auf. Mit Ausnahme von St. capillaris ist die Fruchtbarkeit der Weibchen in der ersten Generation weniger groß als später. Die aus den Lungenwurmembryonen entstandenen Weibchen bringen nur ein einzelnes Ei zur Entwickelung, während in den späteren Generationen, was namentlich bei St. micrurus zum Ausdruck kommt, fortschreitend eine größere Zahl von Eiern gleichzeitig zur Reife gelangen.

Es scheint auch, daß in den ersten Generationen bei der Eiablage die Embryonen nicht so weit entwickelt sind wie später, wenigstens enthalten nach unseren Beobachtungen die Eier der zuerst fixierten Weibchen noch keine fertigen Embryonen, während in den Präparaten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der späteren Generationen keine abgelegten Eier mehr beobachtet werden, in denen der Embryo nicht fertig ausgebildet war. Je mehr Eier gleichzeitig zur Entwickelung kommen, desto kleiner werden dieselben.

Die Weibchen der verschiedenen Lungenwurmarten sind in den Grundzügen sehr ähnlich gebaut. Sie unterscheiden sich aber in ihrer durchschnittlichen Größe, in der Gestalt ihres Schwanzendes und in der Form ihres Pharynx. Diese Verschiedenheiten sind aber viel weniger groß als die, welche die parasitischen Generationen voneinander trennen.

Ich habe schon erwähnt, daß die Embryonen aus der Lunge einen filariförmigen Darm haben und daß dieser nach der ersten Häutung Rhabditisform annimmt, die parasitierenden Embryonen verhalten sich danach, wenn sie in die freilebenden Generationen übergehen, ganz ähnlich wie Anguillula stercoralis. Während aber die Nachkommen der freilebenden Anguillula stercoralis-Generation wieder einen filariförmigen Darm annehmen, bildet sich bei den Nachkommen sowohl dieser ersten freilebenden Lungenwurmgeneration, wie auch aller folgender stets wieder ein rhabditisförmiger, d. h. mit pharyngealer Anschwellung versehener Darm aus. Allerdings beobachten wir bei den jungen Larven sämtlicher freilebender Lungenwürmer, daß der Vorderdarm (bei der jungen Larve) unverhältnismäßig lang ist, und die Anschwellung an der Mitteldarmgrenze nur schwach angedeutet ist.

Eine sehr eigenartige Erscheinung, die sich mehr oder weniger ausgeprägt bei allen von mir beobachteten Lungenwurmarten vorfindet, ist der Wechsel zwischen langschwänzigen und kurzschwänzigen Generationen. Den größten Unterschied in der Schwanzlänge fand ich bei St. micrurus, wo durch das starke Wachstum des Schwanzes eine Verlagerung der Geschlechtsöffnung in der Mitte, sogar in die vordere Körperhälfte vorgetäuscht wurde — vgl. die II. Generation vom August 1912. Auch bei den übrigen Lungenwurmarten finden wir die Neigung, zeitweilig kürzere bzw. längere Schwänze zu bilden, aber nicht in so ganz auffälliger Weise.

Alle Lungenwürmer neigen dazu, in der Generationsfolge größere Formen zu bilden. Sowohl diese Größenzunahme wie auch die Zunahme der gleichzeitig produzierten Eierzahl scheint mir nicht von besonders günstigen Lebensbedingungen und auch nicht von der Jahreszeit abzuhängen. So werden bei St. micrurus die Novemberweibchen des 2. Jahres größer und fruchtbarer als die Augustweibchen des 1. Jahres. Die größten und fruchtbarsten Weibchen habe ich bis jetzt bei St. capillaris getroffen. Am wenigsten fruchtbar zeigten sich die Weibchen von St. commutatus und paradoxus. Die Ausnahmestellung von St. capillaris, der schon in den spät entwickelten Weibchen solche der ersten Generation mit 11 reife Embryonen enthaltenden Eiern aufzuweisen hatte, erklärt vielleicht die besonders große Infektiosität dieses Lungenwurmes.

Wenn wir die Lungenwürmer in Kulturschalen züchten, so wechseln Zeiten rascher Vermehrung mit solchen ab, in denen ein mehr oder weniger vollkommener Entwickelungsstillstand zu beobachten ist. Dieser Stillstand in der Fortpflanzung ist künstlich herbeizuführen, wenn dem Nährboden nicht dann und wann frische, sterilisierte Erde zugeführt wird und der Graswuchs nicht ab und zu erneuert wird. Er macht sich aber zu gewissen Zeiten auch dann bemerkbar, wenn die Kulturen mit neuem Nährboden versehen werden und dafür gesorgt wird, daß keine Fäulnis

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

entsteht. Schädlich ist für die Vermehrung der Lungenwürmer in künstlichen Kulturen Fäulnis, zu intensive Sonnenbestrahlung, Verunreinigung der Kulturen durch Rädertiere und durch Fliegenlarven. Im allgemeinen sind die Frühjahrsmonate für die Fortpflanzung der Würmer am günstigsten. Bei St. micrurus, dessen Entwickelung ich nun schon seit 3 Jahren verfolge, wechseln 4 Monate der Vermehrung mit 3 Monaten der Ruhe ziemlich regelmäßig miteinander ab.

Gegen Austrocknen sind die freilebenden Lungenwürmer sehr widerstandsfähig. Wird die trockene Kultur angefeuchtet, so sieht man in den meisten Fällen nach wenigen Tagen Larven zum Vorschein kommen. Die Würmer scheinen sich, wenn ihnen zu wenig Feuchtigkeit zur Verfügung steht, in ihre Haut als Cystenhülle zurückzuziehen und sich auf diese Weise vor dem Austrocknen zu schützen. Auch auf zu hohe und zu niedere Temperaturen reagieren die freilebenden Lungenwürmer in ähnlicher Weise.

Die Möglichkeit, Lungenwürmer jahrelang in kleinen Kulturschalen weiterzuzüchten, zeigt, daß diese Nematoden sehr widerstandsfähig sind und zu ihrer Fortpflanzung im Freien weder eines Zwischenwirtes, noch besonders günstiger äußerer Verhältnisse bedürfen. Diese Tatsachen machen es auch verständlich, daß sich die Lungenwurmkrankheit, da, wo sie einmal festen Fuß gefaßt hat, lange als Endemie halten kann. Es sind ja auch Beispiele bekannt, daß vor Jahren verseuchte Weiden, die in der Zwischenzeit nicht mehr als solche benützt worden waren, noch nach diesen Zeiträumen die Krankheit auf Weidetiere übertragen haben. Die Würmer hatten sich, wie in den Kulturen, weiter vermehrt und benützten die günstige Gelegenheit, in ihren Wirt einzuwandern.

Meine Untersuchungen haben auch gezeigt, daß die Lungenwürmer bezüglich der Wahl ihres Wirtes nicht so wählerisch sind, wie es früher von einigen Seiten angenommen wurde. Ich fand beim Rind, das vorwiegend unter St. micrurus leiden soll, in mehreren Fällen St. filaria, dessen Embryonen mit St. micrurus nicht zu verwechseln sind, ebenso beim Reh, das normalerweise St. micrurus beherbergen soll. Umgekehrt fand ich beim Schaf St. micrurus neben St. filaria und St. capillaris. Auch beim Reh habe ich in diesem Frühjahr, das für die St. capillaris-Infektion der Ziegen besonders gefährlich war, in Gegenden, wo die Ziegenseuche herrschte, neben St. micrurus und filaria die ausgewachsenen Weibchen von St. capillaris angetroffen. Diese Feststellung halte ich für wichtig, weil damit erwiesen wird, daß die Lungenwurmseuche von Weidetieren auf Wild und von diesem auf Weidetiere übertragen werden kann. Ich glaube außerdem die Beobachtung gemacht zu haben, daß Lungenwurmendemieen um so ungünstiger verlaufen, wenn der Seuchenerreger ein Wurm ist, der bei der betreffenden Tiergattung nicht der häufigere, sondern der dem Tier weniger angepaßte ist.

Es bleibt noch ein Wort darüber zu sagen, durch welche Mittel eine Vernichtung der freilebenden Lungenwurmgeneration zu erreichen ist. Ich habe gefunden, daß die kleinen freilebenden Larven sehr empfindlich sind gegen Pferdejauche, verschiedene Düngungsmittel, wie Thomasmehl, Stickstoffkalk und Chilisalpeter. Ferner sterben sie schnell in stark verdünnten Lösungen von Kupfersalzen ab. Bei einem, allerdings nur kleinem Weideplatz ist es mir gelungen, ihn nach wiederholtem Düngen mit Thomasmehl wurmfrei zu machen. In der Praxis

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wird dieses Experiment wohl weniger gelingen, weil es sich da um Verhältnisse handelt, die es nicht ohne weiteres gestatten, eine ganz gleichmäßige Desinfektion herbeizuführen, so daß neben den desinfizierten Teilen immer noch solche zurückbleiben werden, wo das Düngungsmittel nicht hinkam. In solchen Inseln können sich die Würmchen vermehren und von dort aus die anderen Teile überschwemmen, sobald die dort ausgestreuten, ihnen schädlichen Stoffe zersetzt sind. Es ist aber auf dem Weg der wiederholten Düngung mit den Würmern schädlichen Mitteln auf alle Fälle eine Verminderung der Parasiten im Boden zu erreichen, so daß wenigstens einer Masseninfektion gesteuert werden kann, die, wenn schwere Seuchengänge zu verzeichnen sind, wohl immer vorliegt.

Von größter Bedeutung zur Bekämpfung der Lungenwurmerkrankung sind die prophylaktischen Maßnahmen, durch die nach Möglichkeit verhindert werden soll, daß Lungenwurmbrut auf den Weiden ausgestreut werde, mit anderen Worten, daß kranke Tiere auf gesunde Weiden kommen. Da, wo die Weiden bereits verseucht sind, muß, wie ich schon an anderen Stellen ausgeführt habe, neben der Weidedesinfektion eine Behandlung mit Kupfersalzen, entweder auf dem Wege der Fütterung, oder durch intramuskuläre oder intravenöse Einspritzungen Platz greifen. Die Kupfersalze haben nicht nur die Eigenschaft, die Lungenwurmbrut im Freien zu zerstören, sie wirken auch abtötend auf die parasitische Generation.

Durch die Behandlung der erkrankten Weidetiere und des Wildes mit Kupferpräparaten sind, wie ich in der Deutschen Landwirtschaftlichen Presse. Jahrg. 40. No. 84—85 ausgeführt habe, auch bereits günstige Resultate erzielt worden. Ich versage mir aber, heute die Kupfertherapie der Lungenwurmseuche eingehender zu besprechen, weil ich die Ergebnisse von Versuchen abwarten möchte, die gegenwärtig im Gang sind.

Die angewandte Fixierungs- und Färbungsmethode.

Nach vergeblichen Versuchen, die Lungenwurmembryonen, -larven und freilebenden Geschlechtstiere nach den gebräuchlichen Methoden zu fixieren, zu färben und als Dauerpräparate zu konservieren, wurde von meiner Assistentin, Frl. L. Zenneck das im folgenden beschriebene Verfahren ausgearbeitet, mit dem wir sehr gute Resultate erzielt haben. Die Behandlung des Materials geschieht in folgender Weise: Der aus den Wurmknoten der Lunge ausgekratzte parasitenhaltige Schleim oder das aus den Erdkulturen mit Kochsalzlösung ausgeschwemmte und abpipettierte Wurmmaterial wird in eine Glasschale verbracht, die etwa 5 ccm 0,6-proz. physiologische Kochsalzlösung und 1 ccm 0,5-proz. Osmiumsäure enthält. Das in der Konservierungsflüssigkeit gleichmäßig verteilte Wurmmaterial verbleibt darin etwa 30 Stunden und wird im Dunkeln aufbewahrt. Sind die Würmer nach dieser Zeit noch am Leben, was bei den Embryonen häufig, bei den Geschlechtstieren und Larven seltener vorkommt, so wird nochmals Osmiumsäure zugesetzt. Die Würmer und Eier werden in dieser Flüssigkeit so lange belassen, bis sie deutlich gefärbt und fixiert erscheinen. Der Grad der Fixierung läßt sich daran erkennen, daß die Würmchen nicht mehr ihre Form verändern, wenn sie in die endgültige glyzerinhaltige Konservierungsflüssigkeit verbracht werden. Die Fixierungs-

Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

dauer ist für die einzelnen Entwicklungsstadien und für die einzelnen Wurmarten verschieden und beträgt 3—6 Tage. Sie hängt von der derberen oder weniger derben Beschaffenheit der Cuticula ab. Werden die Objekte bei längerer Fixierung zu dunkel gefärbt, was in den Fällen vorkommen kann, wo in dem Körper des Wurmes viel Fettkörper angehäuft ist, so läßt sich die Schwärzung der Organe auf das gewünschte Maß zurückführen, wenn man die überfärbten Würmchen in destilliertes Wasser mit geringem Formolzusatz bringt. Ist die Fixierung und Färbung gelungen, so wird die über dem die Würmer enthaltenden Bodensatz stehende Flüssigkeit abgesaugt und dieser mit destilliertem Wasser wiederholt vorsichtig gewaschen. Nach dem Auswaschen, was etwa 12 Stunden dauert, wird die endgültige Konservierungsflüssigkeit zugesetzt, die in ihrer Zusammensetzung der Joresschen Flüssigkeit III entspricht.

Aq. dest.	1000
Glyzerin	600
Natr. acet.	300

In dieser Flüssigkeit verbleibt das fixierte und durch die Osmiumsäure gefärbte Material, das auch in derselben für Dauerpräparate eingeschlossen werden kann. Um mikroskopische Präparate anzufertigen, wird mit einer weiten Pipette 1 Tropfen des die Würmer enthaltenden Bodensatzes angesaugt, auf einen Objektträger gebracht, mit einem Deckglas bedeckt und mit Glyzeringelatine umrandet. Nach dem Antrocknen der Gelatine wird ein zweiter Ring von Xylol-Damerlack um das Präparat gezogen, das jahrelang haltbar bleibt. Wir haben in dieser Weise konservierte Präparate, die sich bis jetzt schon 5 Jahre unverändert erhalten haben.

Tafelerklärung.

Erklärung der Abkürzungen: *M.* = Mund, *Mh.* = Mundhöhle, *St.* = Mundstäbchen, *Oe.* = Oesophagus, *Nr.* = Nervenring, *Ph.* = Pharynx, *D.* = Darm, *Ov.* = Ovarium, *E.* = Ei, *U.* = Uterus, *V.* = Vulva, *Va.* = Vagina, *R.* = Receptaculum, *H.* = Hoden, *Sp.* = Spicula, *S.* = Samenleiter, *Sch.* = Schwanzspitze.

Tafel I[1]).

Fig. 1—23: Strongylus micrurus aus der Rehlunge, ausgesät am 9. Mai 1912.

Fig. 1—1b. Eier aus den Lungenwurmknoten einer Rehlunge, die auf sterilisierte Erde gebracht wurden; Fig. 1, 1b granulierte Embryonen.

Fig. 2. Embryo aus den Lungenwurmknoten der Rehlunge, Schwanzspitze und Stachel deutlich.

Fig. 3, 5. Aus den ausgesäten Embryonen auf sterilisierte Erde nach 5 Wochen hervorgegangene Larven. Fig. 5 weibliche Larve.

Fig. 6. Larven in verschiedenen Stadien der Entwickelung. Fig. 8: Weibchen der I. freilebenden Generation mit Ei, das noch keinen entwickelten Embryo enthält. Fig. 9: Männchen der I. freilebenden Generation. Der Schwanz ist viel kürzer und von dem der Weibchen verschieden gebaut.

Fig. 10c. Abgelegtes Ei, mit entwickeltem Embryo.

Fig. 14. Larve der II. freilebenden Generation nach dem Verlassen des Eies.

Fig. 16. II. Generation. Weibchen, langschwänzige Generation mit 2 Eiern mit ausgebildeten Embryonen.

Fig. 17. Larven der III. Generation nach dem Ausschlüpfen.

Fig. 19. Geschlechtsreifes Weibchen der VII. Generation. Das Weibchen enthält 4 Eier mit entwickelten Embryonen. Die Generation ist wieder langschwänzig.

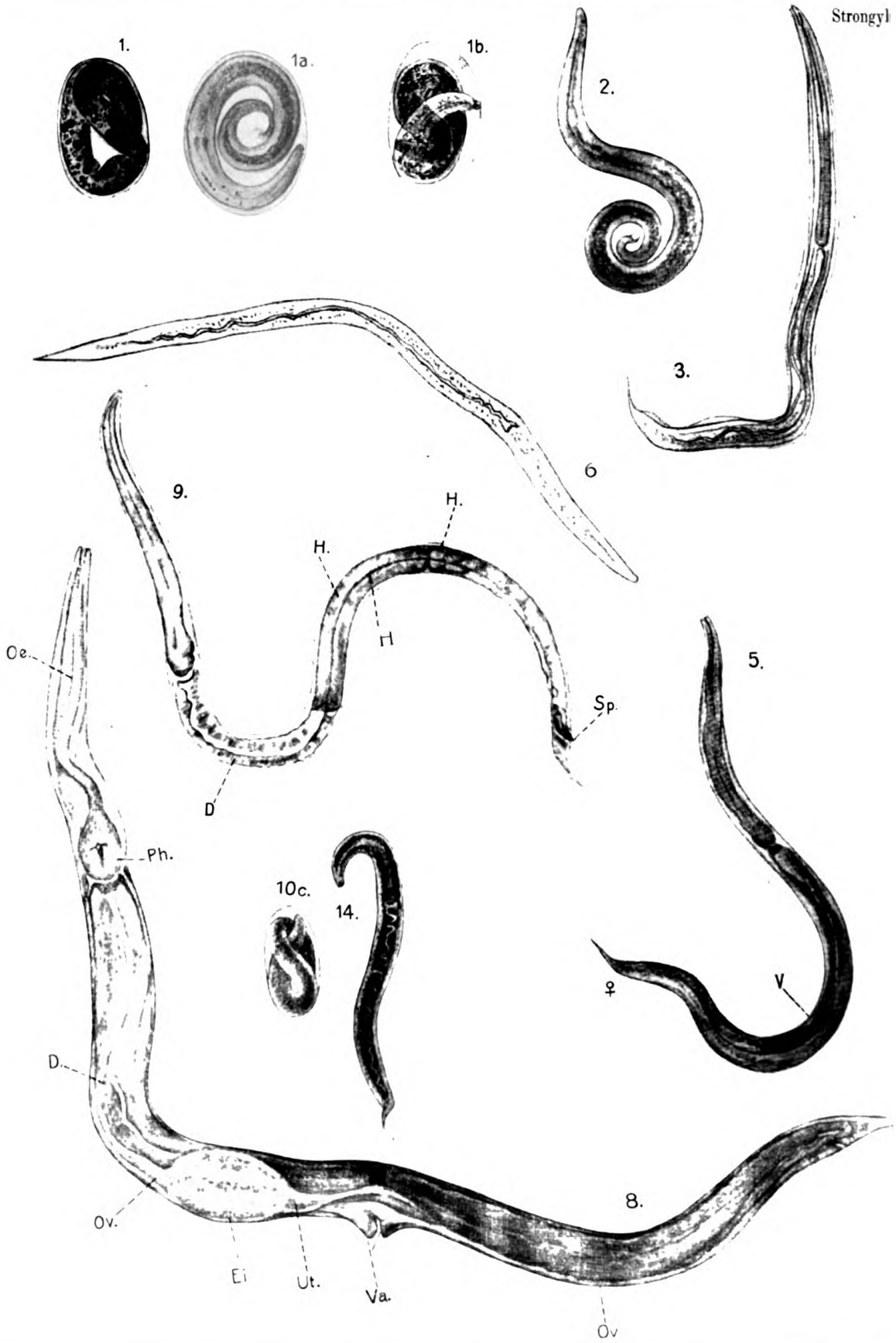
1) Von den hergestellten Zeichnungen konnten nicht alle reproduziert werden, aus diesem Grunde ist die Numerierung der Figuren nicht fortlaufend.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN



Original Verlag von Gust

Digitized by Google
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

as micrurus

av Fischer in Jena.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

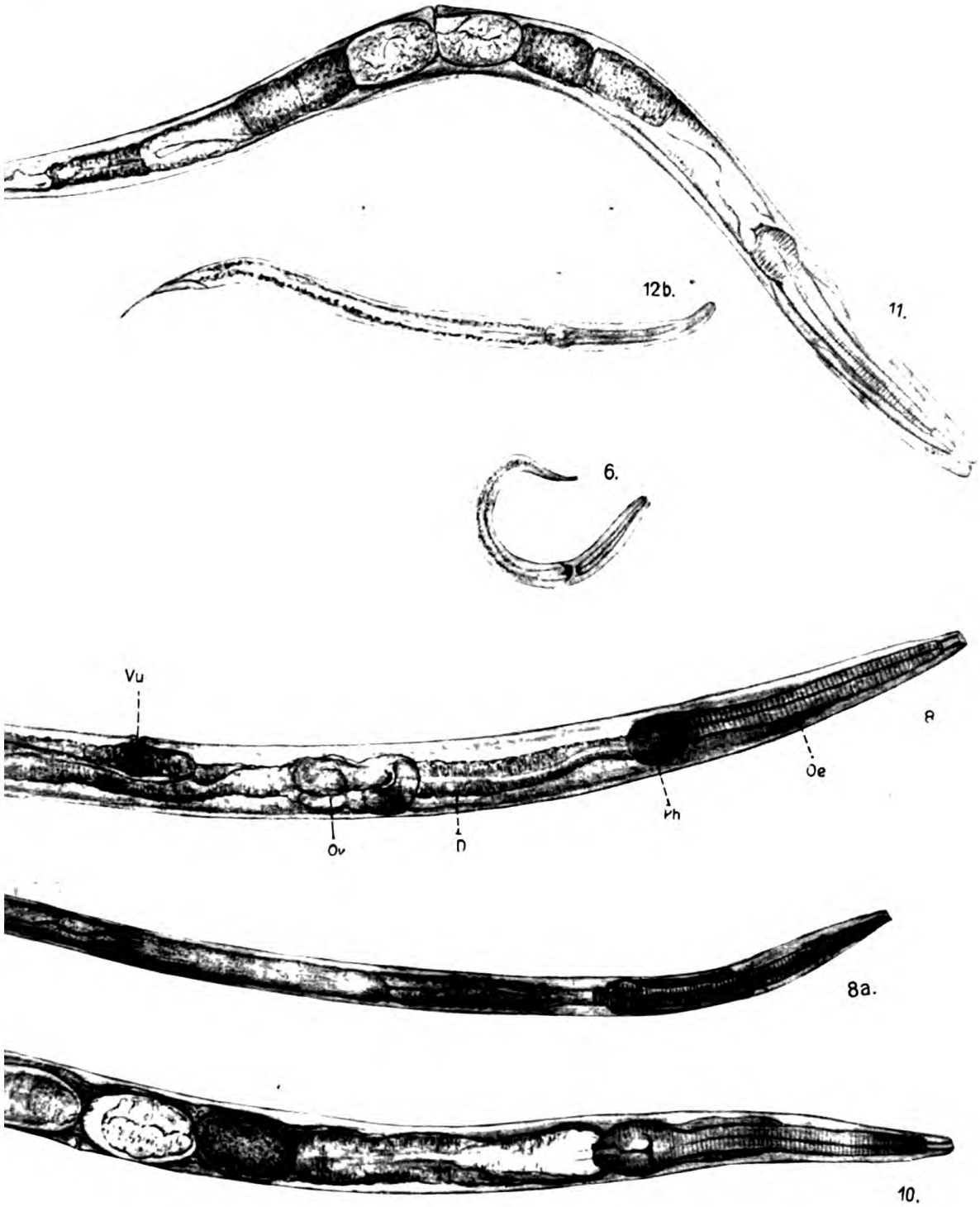
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Strongy

Verlag von Gusta

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lus filaria.



v Fischer in Jena.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Strongylus paradoxus

Verlag von Gustav

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Strongylus commutatus

'ischer in Jena.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Strongy

Verlag von Gust

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

s capillaris

Fischer in Jena.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Fig. 21, 23. Weibchen der IX. Generation. Fig. 21: Die Anlage der Geschlechtsorgane ist hier besonders deutlich zu sehen. Fig. 23: Das Weibchen enthält zahlreiche Eier mit entwickelten Embryonen. Die Eier sind kleiner als die der weniger fruchtbaren früheren Generationen.

Tafel II.

Fig. 1—12: Strongylus filaria aus der Lunge des Rindes, ausgesät am 6. März 1913.

Fig. 1 a, c. Eier aus einem Lungenwurmknoten, auf sterilisierte Erde gebracht. Fig. 1 Ei mit granuliertem Embryo.

Fig. 2. Embryo aus einem Lungenwurmknoten der Rinderlunge, auf sterilisierte Erde gebracht.

Fig. 3. Dasselbe, der Embryo hat eine Cystenhülle gebildet und beginnt sich zu verwandeln.

Fig. 5. Geschlechtsreifes Weibchen mit Ei, in dem der Embryo entwickelt ist.

Fig. 6. Larve der II. Generation, die 7 Wochen, nachdem die Embryonen aus der Lunge auf Erde gebracht worden waren, auftritt. Die dazugehörigen geschlechtsreifen Weibchen der I. Generation, als deren Nachkommen die Larven zu betrachten sind, wurden nicht konserviert.

Fig. 7. Noch nicht ausgewachsenes Weibchen der späteren Generation, bei dem die Anlage der Geschlechtsorgane zu erkennen ist.

Fig. 8a. Erwachsenes Männchen von Strongylus filaria. Die Spicula sind nicht so stark gebogen wie bei St. micrurus. Der Schwanz ist kürzer und von dem des Weibchens verschieden gebaut. Fig. 8 Weibchen der Februargeneration 1914. Die Anordnung der Geschlechtsorgane ist besonders deutlich zu sehen.

Fig. 10. Weibchen der Februargeneration 1914 mit Eiern. Die Embryonen sind noch nicht ausgebildet.

Fig. 11. Weibchen der Februargeneration in Häutung. Die Uteren enthalten 6 Eier mit unentwickelten Embryonen.

Fig. 12 b. Nachkomme der Februargeneration.

Tafel III.

Fig. 1—10. Strongylus paradoxus aus der Lunge des Wildschweines, ausgesät am 14. August 1912.

Fig. 1, 3. Eier aus der Lunge des Wildschweines. Die Form derselben ist kugelförmiger als bei den anderen Lungenwurmarten.

Fig. 4. Embryo aus der Lunge. Das Schwanzende ist knopfförmig aufgerollt.

Fig. 5, 7. 9 Wochen nach der Aussaat auf sterilisierter Erde entwickelte Larve.

Fig. 8. Männchen der Dezembergeneration. Die Spicula sind sehr kurz. Die Schwanzspitze ist kürzer und von der des Weibchens verschieden geformt.

Fig. 10. Weibchen der Februargeneration 1914. Es enthält Eier mit noch nicht entwickelten Embryonen.

Fig. 1—11. Strongylus commutatus aus der Lunge des Hasen, ausgesät am 17. Oktober 1912.

Fig. 1a—1b. Eier aus der Lunge des Hasen. Fig. 1a granulierter, 1b nicht granulierter Embryo.

Fig. 2a. Embryo aus der Lunge des Hasen.

Fig. 4. Noch nicht ausgewachsenes Weibchen der I. freilebenden Generation.

Fig. 5a. Junge Larve der II. Generation.

Fig. 6. Noch nicht ausgewachsene, wahrscheinlich männliche Larve.

Fig. 9. Geschlechtsreifes Weibchen späterer Generationen mit einem Ei.

Fig. 9, 11. Junge Larven der Februargeneration 1914.

Tafel IV.

Fig. 2—19. Strongylus capillaris aus der Lunge der Ziege, ausgesät am 19. März 1914.

Fig. 1—3. Ei von Strongylus capillaris. Die Eier wurden einer an Lungenwurmseuche verendeten Ziege entnommen und auf sterilisierte Erde gebracht.

Fig. 5, 6. Embryonen aus dem Lungenwurmknoten aus der Ziegenlunge, die ebenfalls auf sterilisierte Erde ausgesät wurden, der Schwanzlappen und Stachel ist deutlich zu erkennen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fig. 7, 9. Larven verschiedener Größe 26 Tage nach der Aussaat der Embryonen. In Fig. 9 ist die Vulva angelegt.

Fig. 10. Geschlechtsreifes Weibchen 26 Tage nach der Aussaat der Embryonen. Das Weibchen enthält 2 in Furchung begriffene Eier. I. Generation.

Fig. 11. Junge Larven der II. Generation.

Fig. 16. Weibchen von Mitte Mai I. Generation, mit 3 gefurchten Eiern.

Fig. 15. Larve der II. Generation in Häutung.

Fig. 17. Weibchen von Ende Mai I. Generation (?) mit 11 entwickelte Embryonen enthaltenden Eiern.

Fig. 18—19. Junge Larven.

Nachdruck verboten.

La virulence, respectivement la dose minima mortelle de la salive et des glandes salivaires rabiques comparée à celle de la substance nerveuse rabique.

Contribution au mécanisme de l'immunisation rabique.

[Institut antirabique uni à l'Institut d'Hygiène de l'Université de Sassari.]

Par Prof. **Claudio Fermi.**

I. Dose minima mortelle de la salive rabique du chien (virus de rue).

On recueillit à cet effet autant de salive de chiens affectés de virus de rue qu'il était possible, et puis, comme on le fit pour la substance nerveuse rabique, on en établit la dose minima mortelle en déterminant la virulence des dilutions depuis 1 : 1000 à 1 : 50000.

I. Recherche: On prépare des dilutions de la salive susdite à 1 : 1000—10000—20000—30000—40000—50000 et puis on en injecte $^1/_4$ c. c. par voie sous-cutanée à des souris.

Recherche de contrôle: On injecte à 2 souris $^1/_4$ c. c. de salive non diluée (voyez tableau 1).

II. Recherche: On répète la recherche avec la salive d'un autre chien en essayant les dilutions suivantes: 1 : 1000—3000—5000—10000—20000—30000—40000—50000 (voyez tableau 2).

III. Recherche: On répète l'expérience avec la salive d'un troisième chien avec des dilutions à 1 : 1000—3000—5000—6000—7000—9000—10000 (voyez tableau 3).

IV. Recherche: On répète l'expérience précédente avec la salive d'un quatrième chien, avec les dilutions précédentes, en injectant d'ailleurs le matériel à la proportion de $^1/_{10}$ c. c. dans les yeux des souris, au lieu que sous la peau (voyez tableau 4).

Les expériences avec les résultats relatifs figurent dans les 4 tableaux suivants.

Résultats. Ces tableaux démontrent ce que suit: que la dose minima, c'est-à-dire la dilution maxima mortelle de la salive des chiens affectés du virus de rue fut:

Celle du 2e[1]) chien, de 1 : 3000; sur deux souris d'ailleurs une seule succombe à la rage.

---

1) Ayant essayé, dans l'expérience d'orientement avec la salive du premier chien, seulement des dilutions à 1 : 1000—10000 etc., et non les intermédiaires entre ces deux dilutions, on peut dire seulement que la dose minima mortelle est comprise entre 1 : 1000 et 1 : 10000.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Date	Animaux	Voie d'infection	Quantité injectée	Substance infectante	Pois de l'animal	Résultat	
						Commencement de la paralyse	Date de la morte
				No. 1.			
1913 24. 12.	souris 1	sous-cutanée	1/4 c. c.	salive de chien enragé 1 : 1000		7. 1. 6 p.	8. 1. 9 a.
	„ 1	„				„	„
„	„ 1	„	„	id. 1 : 10000		vive	
	„ 1	„		„ „		„	
„	„ 1	„	„	id. 1 : 20000		„	
	„ 1	„		„ „		„	
„	„ 1	„	„	id. 1 : 30000		„	
	„ 1	„		„ „		„	
„	„ 1	„	„	id. 1 : 40000		„	
	„ 1	„		„ „		„	
„	„ 1	„	„	id. 1 : 50000		„	
	„ 1	„		„ „		„	
„	„ 1	„	„	salive de chien enragé, témoin		7. 1. 7 a.	8. 1. 10 a.
	„ 1	„				„	„
				No. 2.			
1914 8. 2.	souris 1	sous-cutanée	1/4 c. c.	salive de chien enragé 1 : 1000		22. 2. 7 p.	25. 2. 8 a.
	„ 1	„				„	23. 2. 8 a.
„	„ 1	„	„	id. 1 : 3000		„	„
	„ 1	„		„ „		vive	
„	„ 1	„	„	id. 1 : 5000		„	
	„ 1	„		„ „		„	
„	„ 1	„	„	id. 1 : 10000		„	
	„ 1	„		„ „		„	
„	„ 1	„	„	id. 1 : 2000		„	
	„ 1	„		„ „		„	
„	„ 1	„	„	id. 1 : 20000		„	
	„ 1	„		„ „		„	
„	„ 1	„	„	id. 1 : 30000		„	
	„ 1	„		„ „		„	
„	„ 1	„	„	id. 1 : 30000		„	
	„ 1	„		„ „		„	
„	„ 1	„	„	id. 1 : 40000		„	
	„ 1	„		„ „		„	
„	„ 1	„	„	id. 1 : 40000		„	
	„ 1	„		„ „		„	
„	„ 1	„	„	id. 1 : 50000		„	
	„ 1	„		„ „		„	
„	„ 1	„	„	id. 1 : 50000		„	
	„ 1	„		„ „		„	
„	„ 1	„	„	témoin, salive pas diluée		22. 2. 7 p.	23. 2. 8 a.
	„ 1	„				„	„
				No. 3.			
8. 4.	souris 1	sous-cutanée	1/4 c. c.	salive de chien affecté de rage de rue dilué 1 : 1000		23. 4. 7 p.	24. 4. 9 a.
„	„ 1	„	„	id. 1 : 3000		„	„
„	„ 1	„	„	id. 1 : 5000		24. 4. 7 a.	25. 4. 9 a.
„	„ 1	„	„	id. 1 : 6000		vive	
„	„ 1	„	„	id. 1 : 7000		„	
„	„ 1	„	„	id. 1 : 9000		„	
„	„ 1	„	„	id. 1 : 10000		„	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Date	Animaux	Voie d'infection	Quantité injectée	Substance infectante	Pois de l'animal	Résultat	
						Commencement de la paralyse	Date de la morte
				No. 4.			
8. 4.	souris 1	occulaire	$^1/_{10}$ c. c.	salive 1 : 1000		22. 4. 7 a.	22. 4. 6 p.
,,	,, 1	,,	,,	,, 1 : 3000		,,	,,
,,	,, 1	,,	,,	,, 1 : 5000		,,	,,
,,	,, 1	,,	,,	,, 1 : 6000		,,	,,
,,	,, 1	,,	,,	,, 1 : 7000		vive	
,,	,, 1	,,	,,	,, 1 : 9000		,,	
,,	,, 1	,,	,,	,, 1 : 10000		,,	

Celle du 3e chien arriva à 1 : 5000.

Celle du 4e chien, en injectant la salive à des souris par voie endoculaire de 1 : 6000.

II. Dose minima mortelle des glandes sous-maxillaires d'un chien mort par virus de rue.

On prépare more solito une émulsion au 5 % à l'acide phénique à 1 % de glandes sous-maxillaires d'un chien mort par virus de rue, et puis on en établit la dose minima mortelle sur une souris moyennant l'inoculation sous-cutanée et endoculaire.

Recherche I. On injecte sous la peau des souris $^1/_4$ c. c. des dilutions à 1 : 1000—3000—5000—6000—7000—9000—10000 d'émulsion des glandes susdites (voyez tableau 5).

Recherche II. On répète l'expérience avec les glandes salivaires d'un autre chien mais injectant les souris par voie endoculaire (voyez tableau 6).

Les expériences avec les résultats relatifs se trouvent dans les tableaux ci-après.

Date	Animaux	Voie d'infection	Quantité injectée	Substance infectante	Pois de l'animal	Résultat	
						Commencement de la paralyse	Date de la mort
				No. 5.			
1914 8. 4.	souris 1	sous-cutanée	$^1/_4$ c. c.	émulsion de glandes salivaires de chien mort de virus de rue 1 : 1000		23. 4. 8 a.	24. 4. 9 a.
,,	,, 1	,,	,,	id. 1 : 3000		,,	,,
,,	,, 1	,,	,,	id. 1 : 5000		vive	
,,	,, 1	,,	,,	id. 1 : 6000		,,	
,,	,, 1	,,	,,	id. 1 : 7000		,,	
,,	,, 1	,,	,,	id. 1 : 9000		,,	
,,	,, 1	,,	,,	id. 1 : 10000		,,	
				No. 6.			
8. 4.	souris 1	oculaire	$^1/_{10}$ c. c.	émulsion de glandes salivaires de chien mort de virus de rue 1 : 1000		22. 4. 7 a.	22. 4. 6 p.
,,	,, 1	,,	,,	id. 1 : 3000		,,	,,
,,	,, 1	,,	,,	id. 1 : 5000		,,	,,
,,	,, 1	,,	,,	id. 1 : 6000		vive	
,,	,, 1	,,	,,	id. 1 : 7000		,,	
,,	,, 1	,,	,,	id. 1 : 9000		,,	
,,	,, 1	,,	,,	id. 1 : 10000		,,	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Résultats: On relève de ces tableaux ce que suit:

Pendant que la dose minima mortelle de l'émulsion 5 % phéniquée à 1 % des glandes sous-maxillaires d'un chien mort de virus de rue, fut celle de 1 : 3000 (en effet les souris inoculées avec les dilutions 1 : 1000—3000 périssaient et toutes celles qui avaient été inoculées avec les dilutions de 1 : 1000—10000 survivaient), la dose minima mortelle de l'émulsion des glandes sous-maxillaires d'un autre chien arriva à 1 : 5000.

Aussi Cruikshank et Wright[1]) avaient observé une capacité d'infection inférieure dans les glandes salivaires (sous-maxillaires). Voici ce que l'on lit dans le Bulletin Pasteur, 30 mars 1914, à p. 244:

»Les émulsions du tissu des glandes salivaires seraient moins virulentes que le liquide salivaire, surtout les préparations de sous-maxillaire.«

III. Comparaison entre la dose minima mortelle de la salive, celle des glandes salivaires rabiques et celle du virus fixe et du virus de rue.

J'aurais commis une erreur si j'avais établi la comparaison entre les doses minimales mortelles de la salive, des glandes salivaires et de la substance nerveuse rabique sans tenir compte de la concentration, respectivement du pourcentage en substance solide des trois substances, d'autant plus que aussi à la comparaison successive entre le pouvoir immunissant des trois substances j'aurais dû comparer toujours le pouvoir immunissant de la salive avec une émulsion au 5 % de substance nerveuse et non avec la substance nerveuse même concentrée.

Pour établir le percentage de l'émulsion de glandes salivaires et de la substance nerveuse à comparer avec la salive, je recherchais le percentage des substances solides de la salive, des glandes salivaires et de la substance nerveuse, et je trouvais:

1) Que le pourcentage des substances solides de la salive est, selon Hammerbacher (que s'accorde avec celui de Frerichs) de 5,797 ‰ et que la moyenne des chiffres obtenues par Harley, Herker, Beaunis est de 5,803 ‰. Je choisis la chiffre approximative = 0,58 %.

2) Que le pourcentage des substance solides de la substance nerveuse cérébrale (humaine), selon Halliburton est de 19,60 %.

Or la substance nerveuse concentrée contient à peu près 33 fois $\left(\frac{19,60}{0,58}\right)$ de plus des substances solides que la salive.

3) Que la dose minima mortelle de la salive rabique du chien (virus de rue inoculé par voie sous-cutanée, fut trouvée par moi du 1 : 3000, essayé par voie sous-cutanée et du 1 : 5000 par voie endoculaire.

---

1) Cruikshank, J. A., and Wright, R. E., The Indian Journ. of med. Research. Vol. 1. 1914. p. 532.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

4) Que selon mes recherches[1]) la dose minima mortelle de la substance nerveuse rabique (mon virus fixe et virus de rue) injectée sous la peau fut des 1 : 50000.

Selon Högyes elle serait seulement de 1 : 5000 et selon Nitsch de 1 : 10000 bien que ces deux auteurs eussent inoculé le virus par voies sous-durales; cela dépend du fait que leur virus est bien plus faible que le mien par voie sous-cutanée.

5) Que la dose minima mortelle de la substance nerveuse rabique concentrée serait 17 et aussi seulement 10 fois $\left(\frac{50000}{3000}\right)$ supérieure à celle de la salive, en expérimentant avec mon virus fixe, pendant qu'elle serait égale, en expérimentant avec le virus de Högyes, et supérieure seulement d'une fois à peu près, surtout en expérimentant avec le virus fixe de Nitsch.

6) D'ailleurs nous avous vu que la substance nerveuse cérébrale est 33 fois plus concentrée que la salive; or, en réduisant la substance nerveuse à la même concentration que la salive, pour la rendre apte à être confrontée avec celle-ci, on voit, que la concentration de la substance nerveuse, confrontable avec la salive est du 3 %.

7) Or la dose minima mortelle de l'émulsion de la substance nerveuse rabique au 3 % non est plus du 1 : 50000 mais bien 16—17 fois inférieure, c'est-à-dire du 1 : 1515; par conséquent la dose minima mortelle de l'émulsion rabique au 3 %, réduite à 1 : 1515 n'est plus supérieure que 16—17 fois (comme elle était lorsqu'il s'agissait de la substance nerveuse non diluér) à celle de la salive, mais inférieure de presque la moitié $\left(\frac{3000}{1515} = \frac{1}{2}\right)$. En comparant ensuite la salive avec le virus fixe faible de Högyes et de Nitsch, la salive serait plusieurs fois plus virulente que le virus fixe 3 %.

8) Que le pourcentage des substances solides, dans les glandes salivaires du chien, est selon Oidmann du 21,0 % (20 % des substances organiques et du 10 % des substances inorganiques).

9) Que par conséquent les susdites glandes salivaires contiennent $\left(\frac{21}{0{,}58}\right)$ 36 fois de plus (à peu près) des substances solides que la salive.

10) Que la dose minima mortelle des glandes salivaires (sous-maxillaires) rabiques du chien (virus de rue) fut seulement de 1 : 5000, à peu près, comme celle de la salive, dose minima d'ailleurs, que rapportée aux substances solides, qui sont 36 fois supérieures à celle de la salive même[2]).

---

1) Fermi, C., Maximalverdünnung des frischen fixen und Straßenvirus, mit welcher man mittels hypodermischer und subduraler Einspritzungen noch die Tollwut erzielen kann. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. H. 5.)

2) Pendant que la comparaison entre la dose minima mortelle à l'abondance en germes rabiques subsiste bien entre la salive et la substance encéphalique rabique, parce que la diffusion des germes rabiques dans la substance nerveuse est, si non uniforme, au moins générale comme dans la salive, au contraire elle ne subsiste pas entre l'abondance des germes rabiques de la salive et celle des glandes salivaires (toujours

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

11) Que la dose minima mortelle des glandes salivaires fut 10 fois $\left(\frac{50000}{5000}\right)$ inférieure à celle des substances nerveuses rabiques, étant le pour-cent des substances solides à peu près égal (19,60 et 21,00 %).

On peut donc conclure:

1) Que la dose minima mortelle de la salive rabique varie entre 1 : 3000 et 1 : 6000.

2) Que la dose minima mortelle des glandes salivaires sous-maxillaires varie entre 1 : 3000 et 1 : 8000.

3) D'ailleurs la salive ayant une densité 36 fois inférieure à la densité du tissu glandulaire il en résulte que la dose minima mortelle de la salive est 36 fois plus petite que la dose minima de la glande sous-maxillaire, c'est-à-dire que la virulence ou le nombre des germes rabiques dans la salive est 36 fois supérieur.

4) La dose minime mortelle de la substance nerveuse rabique (virus fixe de Sassari et virus de rue) prouvée chez les murides oscille entre 1 : 50000 et 1 : 70000.

4) Par conséquence la dose minima mortelle de la substance nerveuse est 10 fois plus petite, c'est-à-dire 10 fois plus riche des germes rabiques que la dose minima mortelle des glandules salivaires (1 : 5000). La densité de deux tissus étant presque égale, la proportion ne change pas.

6) La susdite dose minima mortelle de la substance nerveuse est presque 9 fois plus petite que celle de la salive (1 : 600); étant d'ailleurs la densité de la salive 33 fois inférieure à celle de la substance nerveuse, il en vient par conséquence que la dose minima mortelle de la salive n'est pas plus seulement 9 fois plus grande (c'est-à-dire que la quantité de germes rabiques, n'est pas plus 9 fois plus petite) que celle de la substance nerveuse, mais bien 24 fois (33—9 = 24).

---

rapportée au pour-cent en substances solides, parce qu'il pourrait se donner que les germes se trouvent plus concentrés dans la salive que dans le tissu de la glande salivaire, tissu dont une grande partie pouvant en être absolument privée, devrait être exclu de la comparaison.

Il serait utile à ce propos, d'étudier la différence des germes rabiques dans les différentes parties de la glande salivaire du chien rabique.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Experimentelle Untersuchungen über die Zahl der Keime und die Infektionen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität zu Parma.]

Von

Prof. Dr. **E. Bertarelli,** Leiter des Instituts, u. Dr. **I. Bocchia,** Assistent.

Der Wißbegierige, der alles an seinen Augen vorüberziehen läßt, was in den Lehrbüchern der Bakteriologie und der Pathologie der Infektionskrankheiten in den letzten 20 Jahren veröffentlicht worden ist, muß sich über das Wesen der Infektionen einen Begriff machen, der dem sehr nahekommt, den Wassermann[1]) mit den nachstehend gegebenen Worten zum Ausdruck gebracht hat: „Das Wesen der Infektion besteht, wie der Name (lateinisch: inficere) aussagt, darin, daß ein lebendes, vermehrungsfähiges Agens von außen in den Organismus eindringt, sich dort vermehrt und Krankheit erzeugt.“ Ohne befürchten zu müssen, in einen Irrtum zu verfallen, können wir wiederholen, daß der Begriff, abgesehen von wenigen, nicht bedeutenden Abänderungen, in jedem Lehrbuch so zum Ausdruck gebracht ist.

Ganz ebenso kann der Studierende, der sich darüber unterrichten will, wie heute die Virulenz der pathogenen Keime gedeutet wird, feststellen, daß fast in jedem Lehrbuch von einem unbekannten Quid (Lebenskraft, Befähigung zur Vervielfältigung, biochemische Tätigkeiten) gesprochen wird, welches die Wirkung des in den Organismus eingedrungenen Keims kennzeichnet und zu den verschieden starken und verschieden bedeutsamen Schädigungen führt, die für uns die Krankheit bedeuten.

Fast niemals beachtet er dabei ein Element der Infektion und der Wirksamkeit der infizierenden Keime, nämlich die Zahl der zum Auftreten einer Infektion erforderlichen infizierenden Keime.

Es erweckt fast den Anschein, als ob nach Ansicht fast aller Bakteriologen und Pathologen die Infektionsfähigkeit der niederen Lebewesen weiter nichts wäre, als eine Funktion der (biochemischen, physikochemischen) Lebensfähigkeiten des Protoplasmas des niederen Lebewesens. Mehrere Forscher haben sogar bestimmen wollen oder zu bestimmen versucht, welche Gruppierung des Protoplasmas eine besondere Rolle spielen müßte beim Zustandekommen der Lebenstätigkeit, die wir unter dem allgemeinen Namen „Virulenz“ zusammenfassen, wobei es nicht an Autoren gefehlt hat, die die Schuld Körnchen und Protoplasmamassen zugeschrieben haben, die sich nach einigen Färbeverfahren auf besondere Weise färben lassen, wonach also diese Massen und Körnchen, auch schon bei der morphologischen Prüfung, das die Virulenz verratende Moment bedeuten würden.

Nur ganz vereinzelte Forscher haben angesichts der von ihnen nicht beigebrachten Beweise es zum mindesten als möglich hingestellt,

---

1) Wassermann, A., Wesen der Infektion. (Kolle und Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. 1.)

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

daß, wenn auch nicht allgemein gültig, doch wenigstens in einigen Fällen, die Virulenz als eine Funktion der Masse und der Zahl zu deuten wäre. Wir haben für diesen Gedanken zwar keine Autorenstelle anzuführen vermocht, auf jeden Fall aber ist er oft im mündlichen Unterricht zum Ausdruck gelangt. Wenn wir uns nicht irren, so hat gerade Pasteur in bezug auf das Wutvirus gesagt, daß höchst wahrscheinlich die Abschwächung des unter geeigneten Trocknungsverhältnissen belassenen Rückenmarks weiter nichts bedeutet. als eine zahlenmäßige Verminderung der in dem Marke enthaltenen, unbekannten Wutkeime. Dieser Begriff hat gerade zur Högyesschen Methode der Abschwächung des Virus geführt. Es liegen diesem Verfahren stufenweise Verdünnungen zugrunde, die, bei einem gewissen Punkte angelangt, zwar noch einige lebende spezifische Wutkeime enthalten, aber so wenige, daß sie in keinem Fall die Wut zu erzeugen vermögen.

Es wäre damit also mit anderen Worten und wenigstens mit Bezug auf das Wutvirus gesagt, daß die Virulenz viel eher eine Funktion der Zahl ist, als eine Funktion der speziellen Fähigkeiten des pathogenen Lebewesens.

Zwar nicht übereinstimmende, aber immerhin in diese Anschauung einschlagende Begriffe lassen sich hier und da in verschiedenen Arbeiten über Infektionen und die Bedingungen ihres Auftretens vorfinden. So wird z. B. in den letzten Arbeiten über Tuberkulose darauf hingewiesen, daß zur sicheren Erzeugung einer vom Rinde herrührenden Tuberkulose beim Kaninchen auf dem Wege des Darmkanals zahlenmäßig nicht unbedeutende Mengen spezifisccher Bacillen erforderlich sind. Römer z. B. hat derartige Untersuchungen vorgenommen, dabei aber Keimzählungen beiseite gelassen und zu Gewichtsbestimmungen gegriffen (bis zu $^1/_{25000000}$ mg); Selter[1]) will gefunden haben, daß auch mit nur 10 Keimen Tuberkuloseinfektionen erhalten werden können.

In diesem und in ähnlichen Fällen wird aber nicht gesagt, ob wirklich eine andauernde Infektionsunmöglichkeit besteht, wenn nicht zu einer gewissen Anzahl von Keimen (wirklich infizierende Mindestgabe) gegriffen wird, noch ob das grundlegende Element der Infektion die besondere biochemische Fähigkeit des Protoplasmas ist.

Außerdem kann aber, um bei diesem bestimmten Fall von Tuberkulose zu bleiben, die Tatsache, daß zum Erhalten der Tuberkuloseinfektion beim Kaninchen vermittels eines von Rindertuberkulose herrührenden Bakterienbelags viele Keime erforderlich sind, angesichts der bei den Versuchen befolgten Technik auch in dem Sinne ausgelegt werden, daß ein einziger Keim zwar imstande ist, zu infizieren, daß ihm dies aber nur selten gelingt. Eine große Menge von Keimen könnte demnach insofern zur Infektion führen, als die große Zahl der diese Menge ausmachenden Keime die Infektionsmöglichkeiten vermehrt. Wenn man also findet, daß mit 1000 Tuberkulosekeimen die Infektion ganz bestimmt erhalten wird, so könnte dies wohl deshalb der Fall sein, weil sich da 1000 Gelegenheiten zur Infektion bieten. In entsprechender Weise könnte es sich wohl auch bewahrheiten, daß, wenn 1000mal mit einem einzigen Keim experimentiert wird oder 100mal mit einzelnen Mengen von 10 Keimen, es ebenfalls wenigstens 1mal gelingt, mit der Infektion einen guten Erfolg zu erhalten.

1) Selter, Deutsch. med. Wochenschr. 1913. No. 47.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In diesem Falle ließe sich also, genau genommen, nicht behaupten, daß zur Infektion 1000 Keime nötig sind, nur weil man mit 1000 Keimen immer eine Infektion erhält, sondern nur, daß, sobald wir mit 1000 Keimen arbeiten, wir uns Verhältnissen gegenüber befinden, unter denen alle sich einer Infektion entgegenstellende Hindernisse überwunden werden, wenn der infizierende Keim tatsächlich vorhanden ist.

Nun handelt es sich aber vom Standpunkte der Pathogenese und mehr noch von dem der Prophylaxe aus nicht darum, zu erfahren, ob einer gewissen Menge Keime gegenüber die Infektionsmöglichkeiten viel zahlreicher oder nur um weniges größer sind, als einem oder wenigen Keimen gegenüber, sondern es spitzt sich die Frage hauptsächlich darauf zu, ob von jedem einzelnen Keim a—b—d 1 oder wenige Exemplare die Infektion zu erzeugen vermögen, und ferner, ob auch bei Vermehrung der Möglichkeiten, durch Wiederholung des Versuches mit 1 oder wenigen Keimen, die Infektion nicht erhalten werden kann.

Eine Reihe von theoretischen Ueberlegungen läßt es zweifelhaft erscheinen, daß ein einziger Keim zur Infektion führen kann, und daß im allgemeinen ein einzelliges Lebewesen, wenigstens was die Bakteriaceen anbetrifft, dem Angriff des Organismus Widerstand zu leisten vermag. Viele Betrachtungen lassen es dann glaubhaft erscheinen, daß es bei den verschiedenen Infektionskeimen eine Mindestmenge gibt, unter der auch bei Verhundertfachung der Infektionsmöglichkeiten eine Infektion ausgeschlossen bleibt.

Es bedarf keines besonderen Hinweises darauf, daß die genaue Lösung dieser Frage von grundlegender Bedeutung ist sowohl für das Entstehen der Infektionen, wie auch für ihre Verhütung.

Was die Verhütung anbetrifft, so sind wir heute tatsächlich der Ansicht, daß es uns trotz aller schützenden Vorsichtsmaßregeln fast niemals gelingt, alle Infektionsmöglichkeiten auszuschalten, und zwar in dem Sinne, daß wir imstande sind, in einem bestimmten Raume bei einer gewissen Gelegenheit alle Keime einer Krankheit zu zerstören, oder zu verhindern, daß alle oder jeder einzelne Keim zu dem Menschen gelangt, sondern daß wir nur eine große Zahl Infektionsmöglichkeiten und besonders die am meisten zu fürchtenden auszuschalten vermögen.

Wenn wir z. B. bei Verwirklichung der antituberkulösen Abwehrmaßregeln verhindern, daß in einem gegebenen Raume, in dem ein an Tuberkulose Leidender lebt, der infizierende Auswurf den Boden trifft, und eine regelmäßig wiederkehrende Reinigung des Fußbodens vornehmen, so glauben wir damit doch noch lange nicht, daß wir alle Tuberkelbacillen aus dem Raume entfernt haben und daß somit der spezifische Bacillus niemals wieder zu Gesunden gelangen kann, sondern wir haben nur die Gewißheit, daß, wenn das Bespucken des Bodens verhindert werden kann und der Boden immer wieder gut gewaschen wird, nur wenige Keime unserem Zerstörungswerk entrinnen können, und daß diese entronnenen nur kleine Mengen sind oder geradezu vereinzelte Keime.

Wenn dann die einzelnen Keime oder die kleinen Mengen von Keimen (nehmen wir diesen Ausdruck in seiner allgemeinen Bedeutung hin, ohne weiter auf die wirklichen Werte der Mengen einzugehen) niemals imstande sind, eine Infektion hervorzurufen, so wird es leicht ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ständlich, daß man durch Ausschaltung der Möglichkeit des Aufkommens großer Bacillenmengen, die doch eben allein eine Infektion zu erzeugen vermögen, auch alle Infektionsmöglichkeiten unterdrückt hat.

Eine Untersuchung, die den Zweck hat, über diese Erscheinung Klarheit zu schaffen, ob nämlich ein isolierter infektiöser Keim a eine Infektion geben kann, oder ob zur Schaffung einer Infektion mit der Keimart a eine nicht weiter verminderbare Mindestmenge von Keimen erforderlich ist, stößt angesichts der Natur der Untersuchung und der Verfahren, die bei den bakteriologischen Versuchen gewöhnlich zur Verwendung kommen, auf ganz bedeutende Schwierigkeiten.

Es läßt sich nämlich bei den Versuchen mit dem Keime a nur sehr schwer feststellen, daß die Virulenz des Keimes (wobei wir als nachgewiesen annehmen, daß die Virulenz keine Funktion der Zahl, sondern der biochemischen Eigenschaften des Keimes ist) während der Dauer der Versuche sich nicht verändert.

Außerdem sind die Abmessungen kleiner Keimmengen, kein Verfahren ausgenommen, so schwierig, daß man ohne geeignete Nachprüfungen zu großen Fehlergebnissen gelangen kann. Fügt man zu alledem noch die vielfachen der Technik entspringenden Fehler hinzu, so erhellt daraus ohne weiteres, wie wenig es angeht, mit bakteriologischen Proben den Begriff genauer Methoden in Uebereinstimmung bringen zu wollen.

Ferner muß bei derartigen Versuchen auch die Gesetzmäßigkeit der großen Zahlen genau berücksichtigt werden, wenn man sich nicht einer falschen Beurteilung der Erscheinungen schuldig machen will.

Wir wollen das durch ein Beispiel deutlicher zu machen versuchen. Nehmen wir den Fall an, daß bei Einführung eines einzigen Milzbrandbacillus in ein Meerschweinchen auch bei 8—9maliger Wiederholung des Versuches an verschiedenen Meerschweinchen kein Milzbrand erhalten wird. Nehmen wir ferner an, daß im Gegensatze dazu mit 100 Bacillen die Infektion ganz bestimmt erhalten werden kann.

Wer nun aus diesen Versuchen den Schluß ziehen wollte, daß 100 Keime sicher zur Infektion führen, ein einziger Keim dagegen niemals eine Infektion hervorzurufen imstande ist, würde über eine wirkliche Feststellung von Tatsachen hinausgehen. Wenn wir nämlich unter die Haut eines Meerschweinchens 100 Keime einführen, so wiederholen wir 100mal die Infektionsgelegenheit, die wir einem Meerschweinchen bieten, wenn wir ihm einen einzigen Keim einverleiben. Um also sagen zu können, daß ein einziger Keim niemals eine Infektion hervorruft, 100 dagegen ganz bestimmt zu einer solchen führen, müssen wir mit einem einzigen Keim mindestens an 100 Meerschweinchen Versuche vornehmen.

In diesem Falle können die Möglichkeitsgrößen gleich genannt werden. Haben wir dann 100mal mit einem einzigen Keim keine Infektion erhalten, dagegen mit 100 Keimen eine sichere Infektion, so können wir tatsächlich sagen, daß die 100 Keime eine Infektion nicht deshalb erzeugt haben, weil mit ihnen 100mal die Möglichkeit gegeben ist, die bei der Einverleibung eines einzigen Keimes besteht, sondern weil die Menge „100“ einen besonderen Wert hat, der der Vereinigung von 100 Keimen entspringt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dieses Bewertungselement wurde von den wenigen Forschern, die sich auf diesem Gebiete bewegt haben, vollständig außer acht gelassen. Wenn wir in einigen Berichten über Tuberkulose lesen, daß nach Einführung von 50—100—500 Tuberkelbacillen (Rindertypus) in das Maul des Kaninchens keine Infektion erhalten wird, wohl aber mit 2000 Bacillen, so drängt sich einem ohne weiteres der Einwand auf, daß das Verhältnis zwischen 100 und 2000 wie 1 : 20 steht, und daß also der Versuch am Kaninchen mit 100 Keimen mindestens 20mal wiederholt werden müßte, ehe man ihn in Vergleich bringen kann mit den mit 2000 Keimen durchgeführten Versuchen. Andernfalls liegt der Gedanke sehr nahe, daß bei den beiden Versuchen die so sehr einfachen Infektionsmöglichkeitsverhältnisse verschieden sind.

Es darf darin kein phantastisches Bemühen erblickt werden, das darauf hinausgeht, die exakten Methoden oder die mathematischen Begriffe auf die Biologie anzuwenden, sondern eine logische Tendenz zur Verbesserung grober Fehler in einer Wissenschaft, die leider ihrer Natur wegen keine exakte Wissenschaft sein kann.

Aus diesen Voraussetzungen heraus sind wir zu einem Versuchsplane gelangt, der wirklich an diese Anschauungen hinanzureichen scheint und uns allem Anschein nach zu annehmbaren experimentellen Schlußfolgerungen führt.

Als Versuchskeime erschienen uns die Milzbrandbacillen am angebrachtesten, wobei wir uns vorbehielten, gegebenenfalls auch mit Tuberkelbacillen zu experimentieren. Nachstehend haben wir dann Fall für Fall die Art und Weise der Untersuchung beschrieben; vor allem aber haben wir mit der größtmöglichen Genauigkeit festzustellen versucht, welches die Fehlergrenzen der befolgten Verfahren sind.

Die zu lösende Frage blieb, wohlbemerkt, immer die: Welches ist die Mindestzahl von Bacillen verschiedener Milzbrandstämme, die noch imstande ist, in einem bestimmten Tier eine Infektion zu erzeugen, und kann wirklich vermittels Nachprüfungen auf Grund der Anzahl der Möglichkeiten festgestellt werden, daß die geringeren Mengen nicht imstande sind, eine Infektion auszulösen?

Die Milzbrandstämme, die zu Untersuchungen oder industriellen Zwecken (Vaccine, Seren) in den Laboratorien zur Verwendung kommen, besitzen beim gegenseitigen Vergleich eine ganz verschiedene Virulenz. Für den Augenblick kommt es gar nicht darauf an, ob diese Virulenz eine Funktion der Zahl der Keime ist, die bei den einzelnen Fällen zur Erzeugung der Infektion in Frage kommen, oder ob sie die Funktion besonderer Eigenschaften des Bakterienprotoplasmas ist.

Bei unseren Untersuchungen nahm die zu lösende Frage folgende Form an: Es handelte sich darum, den gegebenen Milzbrandbacillusstämmen a—b gegenüber für jeden einzelnen festzustellen, ob es eine infizierende Mindestkeimdosis gibt, und den Versuch in der vorbesagten Weise zu verbessern, um den dem Möglichkeitsgesetz entspringenden Fehler zu vermeiden.

Nach Festsetzung dieser Werte blieb dann nur noch die verschiedene Wirksamkeit der Stämme a—b—c gegenseitig zu vergleichen. Weiter unten finden sich Angaben über die virulenten Stämme, die zu den Versuchen herangezogen worden sind.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die erste zu lösende Frage war nun die: Ist die Möglichkeit vorhanden, daß wir wirklich mit annähernder Sicherheit mit festen Gaben von Keimen zu arbeiten vermögen (in unserem Falle die Milzbrandbacillen a—b—c), und zwar derart, daß wir sicher sein können, bei den Versuchen wirklich mit 1—2—10—20 Keimen zu operieren. Welches ist bei diesen Messungen in jedem Falle der an das Zählverfahren gebundene, unvermeidliche Fehler? Die Zählung könnte auf zweierlei Weise vorgenommen werden, nämlich entweder direkt, z. B. nach Wright, oder auf Grund der Einsaat. Es fällt nicht schwer, einzusehen, daß die Einsaat Fehlerquellen darbietet, welche die Logik für viel kleiner hält. Eben deshalb haben wir zu den Kulturen gegriffen, um sowohl die Zahl der Keime, mit denen wir arbeiteten, wie auch die etwaigen Fehler festzustellen, die sich beim Arbeiten mit festen Materialmengen ergeben. Auf die Praxis der Laboratoriumstechnik angewandt, war dies um so nützlicher, als ebenda zur Messung die „Oese" gebraucht wird, ein immer unbestimmtes und veränderliches Maß.

Mit dem Milzbrandbacillus lassen sich quantitativ feste Aufschwemmungen herstellen (von fester und beständig verwandter Oese abgegebene Oesenmenge), gewisse Teile abnehmen und Zählungen ausführen, durch die man die Zahl der in einer gewissen Aufschwemmungseinheit gelegenen Keime erhalten kann.

Es bleibt nur noch festzustellen, ob man, auf diese Weise vorgehend, wirklich glauben kann, daß Zahlenschwankungen vermieden werden, die der verschiedenen Materialmenge entstammen, welche jedesmal ein und dieselbe Oese aufnimmt, Schwankungen, die zunehmen können, wenn man verschiedene Kulturen mit verschieden starker Entwicklungsstärke verwendet.

Wir haben die ersten Versuche auf verschiedene Weise vorgenommen und sind dabei sowohl von Fleischbrühekulturen wie auch von Agarbelagen ausgegangen. Das befolgte Verfahren geben wir nachstehend im einzelnen wieder, damit spätere Forscher einen richtigen Begriff erhalten von den Wegen, die wir gegangen sind, um die Fehlerquellen soviel wie möglich einzuschränken:

Milzbrand a (wurde uns von Prof. Belfanti in Mailand mit der Bezeichnung „virulenter Milzbrand" eingesandt). Es wird eine Agarkultur hergestellt und diese 24 Stunden bei 37° gelassen. Dann werden mit dem von uns bestimmten Oesenmaß 3 Oesen Kulturmaterial entnommen und darauf je eine Oese in je ein 10 ccm Fleischbrühe fassendes Röhrchen eingesät. In jedem Röhrchen finden sich 3 sterile Glasperlen. Nach Beendigung der Einsaat wird das Material leicht durcheinander geschüttelt.

Die Fleischbrühe enthaltenden Röhrchen kommen 24 Stunden lang in den Brutofen bei 37°, worauf durch Schütteln für gleichartige Verteilung des Materials gesorgt wird. Daraufhin wird 0,1 ccm dieser Fleischbrühkultur entnommen und damit eine Verdünnung hergestellt in 9,9 ccm Fleischbrühe (in jedes Röhrchen kommen außerdem sterile Glasperlen zur gleichartigen Verteilung).

Nach gleichmäßiger Verteilung des Materials wird 0,1 ccm entnommen, worauf damit in großen Petrischen Schalen Plattenkulturen hergestellt werden. Die Zählung erfolgt nach 40 Stunden.

Es werden im ganzen für die 3 Röhrchen 12 Platten hergestellt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei der Zählung ergeben sich zwischen 1000 und 2600 Keimen schwankende Werte. Es wäre demnach der bei solcher Technik sich ergebende Fehlerwert ungefähr gleich 1—3. Daraus läßt sich dann schließen, daß jedesmal, wenn Entnahmen von Milzbrand-Fleischbrühkulturaufschwemmungen gemacht werden, unfreiwillige Fehler im Verhältnis 1 : 3 eintreten können.

Nach Beendigung dieses ersten Vorversuches, der uns über die Größe der möglichen Fehler zu unterrichten hatte, schritten wir zu einem 2. Versuch, mit dem wir feststellen wollten, wie viele Keime von dem Milzbrandbacillus a unsere Oese zu entnehmen vermochte, und wie groß die Fehler sind, die bei der Entnahme einer Oese Material unterlaufen können.

Es wird dazu eine Kultur in Agar hergerichtet, die 20 Stunden auf 30° bleibt. Dann wird eine Oese entnommen, diese in 10 ccm physiologischer Lösung zerdrückt und die Aufschwemmung mit Hilfe der Glasperlen erhalten. Von dieser Aufschwemmung wird 0,1 ccm entnommen und mit 9,9 ccm physiologischer Lösung vermengt. Von dieser 2. Verdünnung wird 0,1 ccm wiederum mit 9,9 ccm physiologischer Lösung vermengt; mit 0,1 ccm dieser 3. Verdünnung endlich werden Agarplattenkulturen angelegt und dann die Zählungen nach 40-stündigem Verbleib bei 37° vorgenommen.

Auf jeder Platte erhält man auf diese Weise 1 oder 2 Keime, zumeist jedoch 2, so daß sich also sagen ließe, daß die Schwankungen in der Zahl der Keime im Verhältnis von 1 : 2 stehen, eigentlich sogar in einem noch geringeren Verhältnis, und daß unsere Oese an Milzbrandmaterial ungefahr 100 000 000—200 000 000 Keime überträgt.

Daraus ergibt sich, daß es nicht schwer fallen kann, bei andersartig fraktionierten Aufschwemmungen in einem Raumgehalt von 0,1 bis 0,2, der sich sehr gut zu solchen Inokulationen eignet, über 10—20—30—100 Keime zu verfügen.

Wir haben hier zwar nur einen einzigen Vorversuch erwähnt; bevor aber der Oesenwert eines jeden Stammes bestimmt worden ist, d. h. bevor wir die Tatsache anerkannt haben, daß die Oese eine bestimmte Anzahl von Keimen überführt, sind immer mehrere Versuche zur Ausführung gelangt. Im Verlaufe dieser Versuche wurde dann sehr oft mit Kontrollplattenkulturen nachgeforscht, ob die Bakterienaufschwemmungen, von denen man behauptete, daß sie 1—2—20—100 Keime enthielten, auf den Platten diese Zahl wirklich lieferten, wobei dann natürlich immer der Fehler in Betracht zu ziehen war, den wir den der Methode anhaftenden Fehler nennen können.

Im allgemeinen können wir behaupten, daß bei den einzelnen Gruppen unserer Untersuchungen die Fehler niemals über das Verhältnis von 1 : 3 hinausgingen, sich im Gegenteil sehr in der Nähe von 1 : 2 hielten, und zwar überall da, wo es sich um Versuche mit einer sehr niedrigen Zahl von Keimen handelte (höchstens wenige Zehn).

Werden dagegen bedeutende Keimmengen zum Versuche herangezogen, so sind die entstehenden Fehler gewöhnlich viel geringer; es ergibt sich dann zwischen der ausgerechneten und der bei dem Züchtungsversuch tatsächlich vorgefundenen Keimzahl das Verhältnis von 1 : 1,5, gewöhnlich sogar noch etwas weniger.

Es will das also heißen, daß, wenn auf Grund der Versuche und der Berechnung eine bestimmte Menge Bakterienaufschwemmung die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mindestzahl von 10 Keimen enthalten soll, wir aus der Erfahrung ableiten müssen, daß wir da der Möglichkeit bestehender Fehler gegenüber annehmen können, daß es sich da anstatt um nur 10 auch um 20 oder höchstens um 30 Keime handeln kann, während sich anstatt 300—500 Keime höchstens 450 bzw. 750 vorfinden lassen.

Es könnte nun aber das Bedenken aufsteigen, daß bei den nachfolgenden Uebertragungen (unsere Versuche sind länger als 1 Jahr fortgeführt worden) und bei den nicht immer unbedeutenden Veränderungen, die in der Größe der Keime eintreten, sowohl die Meistmenge der in unserer bestimmten Oese enthaltenen Keime als auch die Zahl der Keime, mit der man jedesmal bei den nach dem festgestellten Plane ausgeführten stufenweisen Verdünnungen zu arbeiten glaubte, wechseln könne.

Es haben sich diese Fehlerquellen jedoch auch bei Fortführung der Uebertragungen niemals eingestellt, außerdem haben Nachprüfungen dargetan, daß die Verhältnisse wirklich so liegen.

Auf jeden Fall sind wir bei den Versuchen immer so vorgegangen, daß wir auf Grund eines vorher festgesetzten Planes stufenweise Verdünnungen herstellten, z. B. derart, daß in 0,1 ccm Aufschwemmung sich 2—8—20—100—1000 Keime vorfinden lassen mußten. Vor Einverleibung des Materials haben wir dann stets mindestens 4—6 Kontrollplattenkulturen hergestellt, und zwar mit verschiedenen Mengen von Material.

Die für jede einzelne Platte berechnete Keimzahl wurde dann mit der da tatsächlich gefundenen Zahl von Keimen verglichen. Trotz einer langen Reihe von Versuchen haben wir, was die berechnete und die gefundene Keimzahl anbetrifft, niemals Unterschiede wahrnehmen können, die das Verhältnis 1 : 3 erreichten. Im Gegenteil. Denn war die ausgerechnete Keimzahl hoch (800—1600—2200), so waren die Schwankungen in der festgestellten Keimzahl, wie schon angeführt, ziemlich niedrig und oft ganz unbedeutend.

Nur bei den niedrigen Werten (2—8—16—32 Keime) ließen sich Unterschiede zwischen den berechneten und tatsächlich vorgefundenen Zahlen nachweisen, die dem Verhältnis 1 : 3 nahekamen.

Will man zu einem solchen Ergebnis gelangen, so gehört dazu eine wirkliche, absolut vollständige Beständigkeit in der Technik. Kein besonderer Kunstgriff ist erforderlich. Unter diesen Verhältnissen ist man sogar oft sehr erstaunt über die Beständigkeit des Befundes, der in einem starken Gegensatz steht zu dem allgemeinen quantitativen Genauigkeitsbegriff, den wir uns in der Bakteriologie zu machen pflegen.

Nachdem dann also die absoluten Werte für die Keimzahl unserer Oese festgestellt und sicher erkannt worden war, daß es möglich ist, mit einer wohlbestimmten, nach Wunsch erhaltbaren Keimzahl zu arbeiten, und schließlich auch die Meistgrenzen gezogen worden waren, innerhalb deren sich etwaige Fehler bewegen können, wurden Meerschweinchen mit bestimmten Keimmengen inokuliert (2—4—8—32—1800 Keime), wobei wir jedesmal auch mittels isolierender Platten zur Nachprüfung schritten und entschlossen waren, alle diejenigen Proben auszuschalten, bei denen die Nachprüfung das Fehlen des richtigen Verhältnisses zwischen den berechneten und den wirklich gefundenen Zahlen ergab.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wir haben vor allem immer Meerschweinchen ungefähr gleichen Alters und eigener Zucht zu den Versuchen herangezogen und dann von Zeit zu Zeit mit den Versuchen immer dann ausgesetzt, wann unser Tierbestand zusammengeschmolzen war, also unser Nachwuchs abgewartet werden mußte. Es ist wohl ganz selbstverständlich, daß keines der zu diesen Versuchen verwandten Tiere, auch wenn es am Leben geblieben war, ein zweites Mal zu diesen Versuchen herangezogen worden ist.

Die nachstehend kurz wiedergegebenen Untersuchungen sind mit 2 virulenten Milzbrandstämmen verschiedener Herkunft vorgenommen worden; wir bezeichnen die beiden Stämme mit c^a und c^b. Die Versuche mit abgeschwächten Milzbrandbacillen sind hier nicht wiedergegeben, doch werden diese letzteren nötigenfalls in einem weiteren Bericht nachfolgen.

Die Versuche wurden zuerst subkutan angestellt. Später aber haben wir auch zu intraperitonealen und intravenösen Einspritzungen gegriffen, damit man uns nicht den Vorwurf machen konnte, es seien bei den subkutanen Inokulationen die Versuchsbedingungen von einem Mal zum anderen insofern verschieden, als man noch nicht wissen kann, ob dabei Gefäße verletzt werden, ob man bis unter die Sehnenhaut vordringt oder nicht, usw. Bei der intraperitonealen Einführung des Materials wurde mit größter Vorsicht vorgegangen; wir bohrten zuerst die Kanüle in das Gewebe ein, drückten dann das Material in die Bauchhöhle durch (innerhalb der gewünschten Grenzen) und zogen dann die Nadel nach vorheriger Abnahme der Spritze heraus. Wir suchten ebenso möglichst die Gefahr auszuschalten, daß, ohne es zu wollen, außer dem Bauchfell auch die kleine, von der Nadel erzeugte Hautwunde in Mitleidenschaft gezogen werden könnte, denn es ist ja eine bekannte Tatsache, daß die subkutane Absorbierung und Infektion nicht denselben Wert hat wie die peritoneale.

Zuletzt haben wir den Versuchen dann die intravenösen Einspritzungen zugrunde gelegt. Die dabei befolgte Technik war hauptsächlich darauf gerichtet, daß nicht nur die volle Keimzahl in die Blutbahn gelange, sondern auch jede Infektion um das Gefäß herum vermieden werde. Eben deshalb wurde die Nadel erst nach Füllung mit steriler physiologischer Lösung in die Randvene eingeführt, dann die Spritze mit der gewünschten Menge Keimaufschwemmung beschickt, ihr Inhalt eingespritzt (wobei zuerst die physiologische Lösung und dann die Keimmenge durchlief) und schließlich weitere physiologische Lösung einverleibt.

Damit die sich daraus ergebenden Folgen dem Verständnis leichter zugänglich seien, greifen wir aus dem Protokoll nur einige Versuche heraus, wodurch wir Wiederholungen vermeiden. Die zahlreichen Versuche geben wir also nur in ganz gedrängter Form wieder:

Versuch mit c^a. Subkutane Einverleibung von 10—20—40—80 Keimen.

Es werden einige Meerschweinchen vorbereitet und eine Kulturaufschwemmung derart hergestellt, daß von einer als Mutterlösung betrachteten Aufschwemmung 0,2 ccm 80 Keime enthalten.

Es werden nun verschiedene Verdünnungen derart zubereitet, daß auf gleiche Volumina 80—40—20 und 10 Keime entfallen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Schließlich werden Kontrollplatten angefertigt.

Anstatt 80 werden die Werte 100—96 erhalten; anstatt 40 erhält man den Wert 60; anstatt 20 den Wert 32; anstatt 10 den Wert 12.

Einem Meerschweinchen werden hierauf 80 Keime einverleibt, 2 Meerschweinchen je 40 Keime, 4 Meerschweinchen je 20 Keime und 5 Meerschweinchen je 10 Keime. In den nachfolgenden Tagen wurden weiteren 3 Meerschweinchen je 10 Keime eingespritzt.

Keines der Meerschweinchen verendet.

Diese Aufstellung gibt einen klaren Einblick in die Durchführung der Versuche, die, wie wir bereits erwähnt haben, nicht verdienen, einzeln wiedergegeben zu werden. Es ergibt sich aus dem angeführten Schema ferner, daß wir uns bemüht haben, dem nahezukommen, was bei den großen Zahlen gesetzmäßig einzutreten pflegt, sowie dem bei den Proben beobachteten Größenverhältnis.

Da jedoch zu derartigen Untersuchungen außerordentlich viele Tiere erforderlich sind, so drängte sich uns die Notwendigkeit auf, schrittweise vorzugehen, während es vom theoretischen Standpunkt aus vorteilhafter gewesen wäre, jede einzelne Gruppe von Versuchen zu gleicher Zeit vorzunehmen und so zu vermeiden, daß auch etwaige zeitliche Virulenzverschiedenheiten mitsprechen konnten.

Der Klarheit wegen geben wir die verschiedenen Proben nicht analytisch wieder, sondern beschränken uns darauf, gruppenweise die wirklich erhaltenen Ergebnisse zusammenzufassen. Es sei hier ein für allemal erwähnt, daß die diagnostische Bestimmung nach den im Laboratorium üblichen Grundsätzen erfolgte, die überlebenden Tiere noch monatelang in Beobachtung gehalten und nicht weiter zu diesen Versuchen herangezogen worden sind.

Bei den meisten Versuchen kam die subkutane Einimpfung zur Anwendung, bei der Minderzahl die endovenöse. Bei allen Versuchen wurde danach getrachtet, jede Veränderung zu vermeiden, die in irgendeiner Weise verändernd auf das Ergebnis einwirken oder die wirklichen Infektionsverhältnisse verschieben konnte. Es wurde also auf unveränderte Einhaltung der technischen Verfahren und stets gleiche Massen bei den Keimverdünnungen gesehen, mochten diese von Fleischbrühkulturen oder Agarbelagen herrühren, sowie auf Benützung derselben Spritze usw. Damit soll jedoch nicht gesagt sein, daß wir in Wirklichkeit derartige Verschiedenheiten vollständig ausgeschaltet haben, denn es liegt dies vollständig außerhalb der Möglichkeitsgrenzen. Ohne Zweifel ist es angesichts der Anforderungen, die derartige Versuche an den Forscher stellen, zu bedauern, daß die Versuchsbedingungen bei den verschiedenen Versuchen nicht jedesmal genau dieselben sein können. Auf jeden Fall haben wir aber unser Möglichstes getan zur Verminderung dieser bei den Versuchen sich einstellendeu Unterschiede auf ein Mindestmaß, womit wir also alle Elemente und Faktoren vermindert haben, die außer der Keimzahl auf den Ablauf der Versuche einwirken konnten.

Nachstehend geben wir in drei Gruppen zusammengefaßt die mit den beiden C^a und C^b genannten Milzbrandstämmen durchgeführten Versuche wieder.

Versuche mit subkutanen Einimpfungen. — Milzbrand a. Es werden Versuche angestellt mit 2, 6, 10, 20, 40, 80

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Keimen, und andere mit 200, 400, 800, 1600 Keimen. Alle Versuche mit 2—6 Keimen bleiben beständig erfolglos.

Bei den Versuchen mit 10 Keimen kommt es in wenigen Fällen zu einer Infektion; ebenfalls zu einer Infektion führen einige der Versuche mit 20—40 Keimen. Etwas häufiger treten diese Infektionen bei den Versuchen mit 80 Keimen auf. Es läßt sich jedoch bei alledem kein relatives Verhältnis zwischen der Keimzahl (1, 20, 40, 80 Keime) und der Möglichkeit des Auftretens einer Infektion herausfinden.

So sterben von 6 mit 80 Keimen geimpften Meerschweinchen 3 an Milzbrand; von 12 mit nur 40 Keimen geimpften verendeten 2; von 24 mit 20 Keimen geimpften nur 3 und von 48 mit 10 Keimen inokulierten nur 3.

Bei Verwendung größerer Mengen (200—400 Keime) wächst auch die Zahl der Infektionen. Bei der Einverleibung von 800 Keimen erliegen alle Meerschweinchen der Infektion.

Milzbrand b. Es werden im Verlauf der Versuche keine bemerkenswerte Unterschiede festgestellt, wenn dazu 2, 6, 10, 20, 40, 80, 200, 400, 800 Keime verwandt werden.

Auch bei diesem Stamm führen die wiederholt vorgenommenen Versuche mit weniger als 10 Keimen auch nicht ein einziges Mal zu einer Infektion. Mit 10 Keimen läßt sich hin und wieder eine Infektion feststellen, ebenso wie mit 20, 40, 80 Keimen. Häufiger schon sind die Fälle von Infektion bei 200 und 400 Keimen; bei Einführung von 800 Keimen kam es bei allen Versuchen zur Infektion.

Bei der unter 800 liegenden Keimzahl läßt sich kein konstantes Verhältnis ausfindig machen zwischen der beim Versuche verwandten Keimzahl und der Möglichkeit eines positiven Ergebnisses.

Versuche mit intravenösen Einimpfungen. — Milzbrand a. Es werden Versuche ausgeführt mit 10, 20, 80, 200, 800 Keimen.

Bei diesen auf Grund des vorerwähnten Schemas ausgeführten Versuchen (das heißt derart, daß, wenn ein Meerschweinchen für 200 Keime verwandt wird, 10 mit je 20 Keimen zu behandeln sind) fällt die Feststellung nicht schwer, daß mit 10 Keimen niemals eine Infektion erhalten wird, ein positives Ergebnis dagegen mit 20 Keimen hin und wieder erhältlich ist.

Aber auch bei diesen Fällen ergibt sich keinerlei konstantes Verhältnis zwischen den zur Wirkung gelangenden Keimen und der Möglichkeit einer Infektion.

Milzbrand b. Abgesehen von einigen im Verlauf der einzelnen Versuche in Erscheinung tretenden Unterschieden ist das Ergebnis in Beziehung auf den allgemeinen Verlauf des Vorgangs dasselbe.

Versuche mit intraperitonealen Einimpfungen. — Milzbrand a. Es werden nach den vorerwähnten Grundsätzen Versuche vorgenommen, wobei mir mit allen möglichen Vorsichtsmaßregeln zu verhüten suchten, daß die intraperitoneale Impfung zu einer teilweisen subkutanen Inokulation werden könnte. Die dazu herangezogene Keimzahl war 10, 80, 200, 800.

Mit 10 Keimen gelingt auch nicht eine einzige Infektion. Mit 80 Keimen ergeben sich bald positive, bald negative Fälle. Bei 200 Keimen bleiben nur ganz wenige Fälle negativ; bei Verwendung von 800 Keimen kommt es stets zur Infektion.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Milzbrand b. Im Verlauf der Versuche werden keine Unterschiede wahrgenommen. Sowohl beim Milzbrand a wie auch beim Milzbrandbacillus b läßt sich keine bestimmte Beziehung zwischen der Zahl der Keime und der Möglichkeit einer Infektion feststellen.

Die sich aus diesen ersten Versuchen ergebenden Folgerungen, welche sich die Erforschung der Funktion der Keimzahl beim Auftreten der Infektion zum Ziele setzten, sind sehr leicht ersichtlich.

Vor allem läßt sich aus diesen Versuchen ableiten, daß es auch bei Verwendung virulenter Milzbrandstämme in der Praxis unmöglich ist, die Infektion mit einer sehr kleinen Zahl von Keimen zu erhalten, die nach den angestellten Versuchen gleich 10 ist. Ohne nun aber auch der Zahl 10 einen absoluten Wert beilegen zu wollen, bleibt doch immer die Tatsache bestehen, daß der Unität sehr nahestehende Keimzahlen zur Erzeugung einer Infektion nicht hinreichen.

Eine folgerichtige Erklärung läßt sich für eine solche Erscheinung freilich nicht leicht finden. Ohne Anspruch auf Genauigkeit könnte da wohl der Gedanke aufsteigen, daß der isolierte Keim notwendigerweise dem chemischen Trauma (nehmen wir vorerst an diesem Ausdruck keinen Anstoß) der Umwelt erliegt (Säfte, Plasma), in der er sich befindet, und sich nicht vermehren kann, dagegen dann, wenn sich mehrere Bakterienzellen beisammenfinden, mehrere sich der direkteren Einwirkung der Säfte zu entziehen und sich zu vermehren vermögen, sowie daß vielleicht die neueren Generationen sich der Umwelt anpassen und zur Infektion führen können, oder aber daß angesichts der großen Zahl neuer Zellen die Einwirkung derartig abgeschwächt, sozusagen verdünnt bleibt, daß sie den Tod der Bakterienzellen nicht mehr herbeizuführen imstande ist.

Mag man nun aber diese Erscheinung erklären, wie man will, das eine steht fest, daß es nämlich eine Mindestzahl von Milzbrandbacillen gibt, unter der jede Infektion ausgeschlossen ist.

Es läßt sich ferner aus diesen Versuchen ableiten, daß ein Parallelismus zwischen Infektionsmöglichkeit und Keimzahl nicht vorhanden ist. Folgerichtig wäre es, das Gegenteil zu vermuten. Doch das Experiment hat auf jeden Fall einen größeren Wert als eine aprioristische Logik. Auch dafür läßt sich nicht leicht eine erschöpfende Erklärung finden. Wir begnügen uns also damit, das Ergebnis der Versuche vorzuführen, ohne unsere Phantasie zu einer wenig überzeugenden Erklärungsarbeit zu verurteilen.

Im besonderen ergibt sich schließlich aus dem Vorstehenden, daß mit Milzbrand die subkutane Infektion leichter gelingt als die intraperitoneale und die endovenöse. Diese Tatsache ist an und für sich nicht neu, wir führen sie nur an, weil sie sie bei unseren Versuchen sehr deutlich zutage getreten ist.

Die im vorstehenden gegebenen Folgerungen sind natürlich nur für den Milzbrand und nicht auch für andere Krankheiten gültig. Sie berechtigen aber noch immer nicht zu der prophylaktischen Anschauung, daß die Ausschaltung der großen Infektionsmöglichkeiten in der Praxis jede Infektionsgefahr ausschließt. Auf jeden Fall aber entspringt dem Vorgesagten, daß, abgesehen von den biochemischen Eigenschaften der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Keime, auch ihre Zahl eine gewisse Rolle spielt, sowie daß die vereinzelten Keime bei dem Milzbrand — wahrscheinlich aber auch bei allen oder fast allen durch Bakteriazeen hervorgerufenen Krankheiten — in bezug auf die Gefahr einer Infektion fast ohne jede Bedeutung sind.

Nachdruck verboten.

On the transmission from mother to offspring of immunity against fowl cholera[1]).

By **Philip B. Hadley.**

It is generally conceded that no animal is more susceptible to any disease than the rabbit to the bacteria of fowl cholera or haemorrhagic septicaemia. In view of our knowledge of immunity-inheritance in several other communicable diseases, as well as of the inheritance of certain specific humoral factors, the question of inheritance of immunity against the bacteria of fowl cholera possesses some interest by reason of the great difficulty encountered in nearly all attempts to create an artificial immunity in any species of animal against this disease. Aside from the complicated and uncertain methods of immunization with aggressin-containing pleural exudates, devised by Weil[2]) after Bail[3]) and the scarcely less complex and still more unreliable methods of Citron and Pütz[4]) by means of serum-extracts and water-extracts of bacterial cultures, no others have regularly succeeded in producing immunity except by the method of inoculation with an avirulent culture (Strain No. 52), as devised and reported by the present writer in earlier publications[5])[6]). Thus the opportunity for observing the inheritance of immunity against fowl cholera has been limited and the only reported attempts to test offspring for inherited acquired resistance are those of Di Mattei[7]). This investigator reports immunizing pregnant rabbits and guinea-pigs with attenuated cultures of the fowl cholera bacterium and states that in no case were the young born to such mothers, immune.

In the writer's laboratory, the main obstacle in the path of the successful immunization of rabbits against at least three virulent strains of the fowl cholera bacterium has now been removed by the discovery of an immunizing culture, — one out of eighteen tested for their resistance-producing value[8]). Rabbits are now regularly and perfectly immunized by a single inoculation, subcutaneously, of from 0.1 to

1) Contribution No. 207 from the Agricultural Experiment Station of the Rhode Island State College, Division of Animal Breeding and Pathology.

2) Weil, E., Arch. f. Hyg. Bd. 52. 1905. p. 413—432.

3) Bail, O., Arch. f. Hyg. Bd. 52. 1905. p. 272—377.

4) Citron, J., u. Pütz, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 56. 1907. p. 145—174.

5) Hadley, P. B., and Amison, E. E., R. I. Agr. Expt. Stat. Bull. 146. 1911. p. 43—102.

6) Hadley, P. B., R. I. Agr. Expt. Stat. Bull. 150. 1912. p. 81—161.

7) Di Mattei, E., Bull. R. Accad. med. Roma. Vol. 14. 1888. p. 368—386.

8) Hadley, P. B., op. cit.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

0.000,000,01 c. c. of a 48-hour bouillon culture of the immunizing strain. Complete resistance appears in from 7 to 10 days. In connection with the studies it was ascertained that female rabbits, once immunized, were able to give birth to young rabbits which, at the age of 30 days or less, possessed a high grade of resistance. With the further study of active immunity in rabbits, additional data have from time to time been secured and it is the aim of the present paper to place these data on record.

Methods.

Two strains of the fowl cholera bacterium were employed in the present study, one an avirulent culture, No. 52, the other a highly virulent strain, No. 48. Both have been in the laboratory collection for about four years. So far as one may speak of typical cultures of the fowl cholera bacterium, these two strains are typical. The chief cultural and biochemical features are exactly the same for the two cultures and may be stated as follows:

Size — 0.4 μ in length.
Non-motile.
Non-capsulated (but cultures sometimes viscous).
Gelatin not liquefied.
Milk not acidified, coagulated nor reduced.
No gas in dextrose, saccharose, lactose or mannite.
Indol-formed, as shown both by Ehrlich's and the Salkowski-Kitasato method.
Nitrates not reduced.
Acid in dextrose broth: No. 48, 0.5 %; No. 52, 0.2 %.
Percent carbolic acid kills in 15 minutes: No. 48, 0.5 %; No. 52, 0.4 %.
Killed by exposure to 62° C for 10 minutes.
Grow on ordinary agar and in beef broth, but better in chicken agar and chicken broth.
Growth usually delicate when freshly isolated from an animal. On certain lots of media, unusually profuse.
In bouillon, faint clouding in 24 hours at 37° C. Clearing and precipitate after 5 to 6 days.

Thus it appears that Culture 48 could not be differentiated from Culture 52 by any morphological, cultural or bio-chemical test. The biological test alone served to separate the two strains; whereas Culture 48 never failed to prove fatal to rabbits, even in doses of from one to four organisms, Culture 52 was never known to kill an adult rabbit, and seldom killed even a young rabbit, except when inoculated by the intraperitoneal route. Moreover, unlike more than a dozen other non-virulent cultures tested for their immunizing power, Culture 52 produced a perfect resistance against Culture 48, when inoculated subcutaneously, intravenously or intraperitoneally in amounts of from 3 c. c. to 0.000,000,01 c. c.; for routine experiment, 0.1 or 0.01 c. c. was commonly employed. Culture 48 in amounts from 1 c. c. to infinitesimal doses (1—4 organisms) usually killed adult rabbits in from 15 to 18 hours.

In view of this difference in pathogenicity for rabbits a corresponding difference in tissue-reaction at the point of inoculation might be expected. Culture 52 invariably produced, upon subcutaneous inoculation, a local infiltration varying in size from that of a dime to that of a dollar. After four days, this became necrotic and underwent natural drainage, and healing usually occurred during the subsequent week.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Several tests have shown that the resistance to infection with the virulent Culture 48 increases progressively with the necrotic process in the local lesion. Necrosis is seldom apparent on the outside before the third or fourth day after inoculation and the first appreciable resistance can be demonstrated in the delayed fatal termination, beginning on the third or fourth day after inoculation; this is shown by delaying death from about 18 hours to from three to four days after the inoculation. By the seventh day the necrotic process is well under way, and in some cases drainage may have occurred. In such cases several tests have shown that complete immunity is present at this time, although it seems probable that resistance increases somewhat beyond this stage during the following week. Thus tissue-necrosis and immunity-production go hand in hand, and although the former comes to a rapid termination, the latter is actively maintained for an indefinite period.

In case a normal rabbit is inoculated with a small amount of Culture 48, the reaction is different. A progressive inflammation occurs at the site of inoculation and extends subcutaneously for 3 to 5 c. c. in all directions from the point of inoculation. No barriers are effectively opposed to the dissemination of the virus and within 8 to 12 hours, the organs of the body and the serous linings of the body cavity are also haemorrhagic. Death occurs in from 12 to 18 hours, and at this time there is only a slightly greater congestion but no appreciable infiltration at the point of inoculation. Even in this brief time the virus has overcome all the body defenses, both local and general and a generalized septicemia has resulted. The bacteria can be recovered from all the organs.

Here, then is a most important difference, biologically, between Cultures 48 and 52; and at the present time it is the only known means of differentiation. These data serve to explain the methods of immunization and infection as these phenomena were made use of for the purposes of the present study.

Experimental.

The available data, brought together in this paper, bear upon several aspects of inherited immunity and may conveniently by considered as follows:

1. Transmission of immunity through the male. — All data bearing upon this point have indicated that no resistance to disease is transmitted by immune males. These results, as might be expected, are in accordance with the majority of reports of other investigators on this subject.

In this experiment, the immunized male rabbit (506) was mated with normal females, 46 B and 22 E. Male 506 was immunized April 6, 1911, at the age of about $2^1/_2$ months, when it received 3 c. c. of Culture 52 subcutaneously. The resulting high degree of resistance that developed indicated complete immunity to inoculations with Culture 48 on the following dates: May 2, June 9, June 30, July 17, August 5, August 25, 1911, and August 12, 1912. The largest amount of virulent culture inoculated was 1 c. c., injected August 25, 1911. In nearly all these tests, control animols died in from 12 to 18 hours.

In the early part of August 1912, this male rabbit was mated with 46 B and 22 E, both normal. At the same time a normal male, 40 A, was mated with one normal female, 16 A, and with one immunized

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

female, 16 E. On September 9, 46 B gave a litter of seven young; September 12, 22 E gave a litter of nine; on September 6, 16 A gave a litter of nine and on September 7, 16 E gave a litter of which two were employed in the present experiment. The immunized female, 16 E, mentioned above, was a pure-bred Belgian, inoculated July 28, 1911 with 3 c. c. of Culture 52. On September 25, 1912, two rabbits were selected from each of the groups mentioned above and inoculated subcutaneously with 0.001 c. c. of virulent Culture 48. The results of these tests are presented in detail in the accompanying table (Table I).

Table I. — Showing the rôle of the male and female in the transmission of acquired immunity in rabbits.

Data on Parents						Data on Offspring			
Inoc. No. ♂	Band No. ♂	Immunized	Band No. ♀	Inoc. No. ♀	Immunized	Band No.	Age	Infected with 0.001 c. c. Culture 48	Result
506	26 G	April 6, 1911	46 B	.	Normal	012 A	16 d.	Sept. 25, 1912	† Sept. 26, 1912
506	26 G	"	"	.	"	012 B	16 d.	"	"
506	26 G	"	22 E	.	"	013 A	13 d.	"	"
506	26 G	"	"	.	"	013 B	13 d.	"	"
.	40 A	Normal	16 A	.	"	113 A	17 d.	"	"
.	"	"	"	.	"	113 B	17 d.	"	"
.	"	"	16 E	653	July 28, 1911	111 G	18 d.	"	Alive
.	"	"	"	"	"	111 H	18 d.	"	"

From these results, it is apparent that there was no transmission of resistance from the immune male rabbit, 506, to his offspring. The fatal issue was just as certain as in the case of those young rabbits, both of whose parents were normal. The young of 16 E, however, survived the infection which caused the death of the other six, indicating that they had inherited from their mother a remarkably strong resistance toward very virulent material.

2. Duration of inherited acquired immunity in the offspring. — To throw light on this point there are assembled in Table II, data on young rabbits, some from immune, others from normal mothers. They were inoculated at different ages, from 30 to 63 days with amounts of Culture 48 varying between 0.01 c. c. and 0.001 c. c. (see Table II).

In this table the young rabbits from normal mothers may be regarded as controls on those from immunized mothers. Rabbits from normal mothers were infected at the age of 30, 32, 40, 49, 54 and 69 days, while the rabbits from immunized mothers were infected at the age of 30, 32, 35, 40 and 44 days. It is clear that the control animals died without exception in from 14 to 25 hours after infection, while all the young from immunized mothers lived, provided the young animals were inoculated when 40 days, or less, or age. It seems probable that some individuals might show resistance beyond the forty-day period.

3. Duration of the ability of immune female rabbits to produce immune young. — To throw light on this point, individuals from successive litters of immune female rabbits were tested by inoculation with Culture 48, and the data are assembled in Table III. Here it is shown that several females retained the ability to produce immune young for more than a year and that in two instances (723, 724) for more than 2 years and 3 months. Although 1086 and 1087 died

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Table II. — Showing the duration of inherited acquired immunity in young rabbits.

Data on Mother		Data on Infection of Young Rabbits						
Band No.	Immunized	Inoc. No.	Band No.	Age	Date	Amount	Result	Period
619	Sept. 29, 1911	805	01 A	30 d.	May 1, 1912	0.01 c. c.	Induration, abscess and drainage	Alive
16 D	Normal	803 Control	86 A	65 d.	„	„	† May 2, 1912	18 hours
619	Sept. 29, 1911	806	01 B	35 d.	May 6, 1912	„	Induration, abscess and drainage	Alive
18 F	Normal	807 Control	96 F	54 d.	„	„	† May 7, 1912	18 hours
619	Sept. 29, 1911	809	01 C	44 d.	May 14, 1912	„	† May 16, 1912	25 hours
16 F	Normal	810 Control	95 C	69 d.	„	„	„	15 hours
16 E	July 28, 1911	921	111 G	32 d.	Oct. 9, 1912	0.001 c. c.	Induration, abscess and drainage	Alive
16 E	„	922	111 H	„	„	„	Ditto	„
22 E	Normal	912 Control	013 C	30 d.	„	„	† Oct. 10, 1912	14 hours
22 E	„	913 Control	013 D	„	„	„	„	14 hours
16 E	July 28, 1911	889	111 D	40 d.	Oct. 17, 1912	„	Induration, abscess and drainage	Alive
18 H	Normal	888 Control	119 F	„	„	„	† Oct. 18, 1912	14 hours

after receiving 0.01 c. c. of Culture 48, it seems probable that they would have resisted a smaller amount, as in the case of 1084, 1085 and 1088.

This point is worthy of special attention, in so far as it bears upon the reliability of the method for testing the presence of inherited immunity in the offspring. In Table III, it is shown that, of the four young rabbits from ♀ 724, the two (1086, 1087), inoculated with 0.01 c. c. of virulent Culture 48 on April 15, at the age of 17 days, did not survive the inoculation; whereas two others (1084, 1085) of the same litter, inoculated on April 23, at the age of 25 days, with 0.000,01 c. c. and 0.000,001 c. c. of Culture 48, respectively, survived the inoculation, the control pigeon (1098) dying in 40 hours. For such young animals even 0.000,01 c. c. of Culture 48 constitutes a tremendous dose, since adult unprotected rabbits succumb regularly to amounts less than 0.000,000,000,001 c. c. It can scarcely be doubted that if 0.000,01 c. c. rather than 0.01 c. c. or 0.001 c. c. had been used as the test-dose for the other rabbits mentioned in Table III, many more of them might have manifested a moderate, or even strong, inherited resistance to infection with Culture 48. From all this it is clear that, when one is dealing with cultures of organisms belonging to the "pure parasites", the dose of virulent material used to test inherited immunity in very young stock must be worked out with considerable care. Adult rabbits, once protected with Culture 52, are able to withstand at least 5 c. c. of a virulent culture, of which four individuals organisms constitute a lethal dose for unprotected rabbits. But in young rabbits, only a few weeks old, one must employ a "reasonable" amount of the infective material. In all the cases cited in this

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Table III. — The duration of the ability of immune females to produce immune young.

Data on Immunization of Mother with Culture 52					Interim to birth of young	Data on Infection of Young with Culture 48					
Band No.	Age	Date	Amount	Result		Number infected	Band No.	Age	Date	Amount	Result
519	3 m. 14 d.	May 5, 1911	3 c. c.	Abscess and drainage	$6^1/_2$ m.	2	723, 724	30 d.	Dec. 23, 1911	0.01 c. c., 0.1 ,,	Alive
680	2 m. 22 d.	Aug. 18, 1911	0.05 c. c.	Ditto	1 y. 22 d.	2	871, 872	16 d.	Sept. 25, 1912	0.001 ,,	† in 42 h.
565	3 m. 14 d.	June 30, 1911	0.25 c. c.	,,	1 y. 2 m. 9 d.	2	879, 880	17 d.	,,	0.001 ,,	† in 20 h.
645	1 m. 25 d.	July 28, 1911	2 c. c.	,,	1 y. 1 m. 11 d.	2	877, 878	17 d.	,,	0.001 ,,	† in 48 h.
542	2 m. 16 d.	June 9, 1911	0.5 c. c.	Induration	1 y. 3 m.	2	906, 907	31 d.	Oct. 9, 1912	0.001 ,,	† in 48 h.
653	1 y. 2 m.	July 28, 1911	3 c. c.	Severe abscess formation, drainage	1 y. 1 m. 10 d.	2	921, 922	32 d.	,,	0.001 ,,	Alive
653	,,	,,	3 c. c.	Ditto	1 y. 1 m. 10 d.	1	889	40 d.	Oct. 17, 1912	0.001 ,,	,,
680	2 m. 22 d.	Aug. 18, 1911	0.05 c. c.	Induration, abscess and drainage	1 y. 3 m. 14 d.	1	879 a	18 d.	Dec. 20, 1912	0.01 ,,	† in 45 h.
645	1 m. 25 d.	July 28, 1911	2 c. c.	Ditto	1 y. 4 m. 3 d.	2	878 a, 880 a	19 d.	,,	0.01 ,,	† in 45 h.
724 [6])	30 d.	Dec. 23, 1911	0.1 c. c.	,,	2 y. 3 m. 4 d.	2	1086, 1087 [2])	17 d.	April 15, 1914	0.01 ,,	† 56 h., † 48 h.
724 [6])	,,	,,	,,	,,	Ditto	1	1084 [1])	25 d.	April 23, 1914	0.000,01 c. c.	Alive [1])
724 [6])	,,	,,	,,	,,	,,	1	1085 [1])	25 d.	,,	0.000,001 ,,	Alive [1])[4])
723 [3])	,,	,,	0.01 c. c.	,,	,,	1	1088 [2])	17 d.	April 15, 1914	0,01 c. c.	Alive [5])

1) Control pigeon died in 40 hrs.
2) Control pigeon died in 21 hrs.
3) The subsequent history of 723 was as follows:
February 29, 1912, received 0.001 c. c. of Culture 48.
May, 1, 1912, received 0.1 c. c. of Culture 48.
August, 2, 1912, received 0.01 c. c. of Culture 48.
January 30, 1913, received 0.1 c. c. of Culture 48.
December 12, 1913, received 0.1 c. c. of Culture 48.

4) Inoculated April 29, 1914, with 0.001 c. c. of Culture 48, and lives; pigeon control died in 15 hrs.
5) Abscess and drainage, April 22, 1914.
6) The subsequent history of 724 was as follows:
August 2, 1912, received 0.01 c. c. of Culture 48.
January 30, 1913, received 0.1 c. c. of Culture 48.
November 23, 1913, received 0.1 c. c. of Culture 48.
December 18, 1913, received 0.1 c. c. of Culture 48.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

paper it is safe to say that the test-dose has invariably been many hundred times the amount that the young animals would receive in any natural infection.

From the foot-note to Table III, it is apparent that rabbits 723 and 724 received several inoculations of virulent material between December 1911 and January 1913. When the antigen is thus more or less continuously supplied perhaps one might expect that the blood would continue to harbor protective substances in high degree. No data are at hand regarding the inheritance of immunity from a mother immunized with a single dose of Culture 52. Nearly all the rabbits had received additional test doses of Culture 48 before they became pregnant.

4. The transformation of passive (inherited) immunity into active immunity through inoculation with virulent culture. — Data on this point were gathered from cases in which young rabbits that had proved refractory to one test-dose of virulent culture, were re-inoculated. The resistance observed was then compared with that of other rabbits of the same litter, not previously tested. One case may be outlined as follows:

Female 519, immunized six and one-half months previously, gave birth on November 23, 1911, to five young (81 A, B, C, D, E). On December 23, 1911, when one month old, two of these young, 81 A (723) and E (724) were tested for resistance by inoculation with 0.01 c. c. of Culture 48. Two control rabbits, born of normal parents, inoculated in a similar manner, died on December 24, 1911, while both principals lived, thus demonstrating a high degree of resistance. On January 31, 1912, when 69 days old, rabbit 81 C was tested and was found to be no longer resistant. But rabbit 81 A (723), which was re-tested on the same date (having been first tested December 23, 1911) was still resistant. Another test was made on May 1, 1912; and both 81 A (723) and 81 E (724) were tested again August 2, 1912, with 0.01 c. c. of Culture 48. Three other infections of these two rabbits with virulent cultures were made at various times subsequent to the tests mentioned above, and demonstrated perfect immunity.

These results are shown in Table IV and fully demonstrate that under the temporary protection of an inherited acquired immunity, rabbits may receive tremendous amounts of virulent culture, and that these serve to transform the evanescent inherited resistance into an active immunity of high efficiency. This immunity undoubtedly endures throughout the life of the animal.

These results regarding the transformation of the type of immunity suggest another point of interest. It does not seem impossible that advantage might be taken of the circumstance mentioned above in the practical immunization of young animals against diseases to which they would be highly susceptible as adults. It is apparent that, under the cover of an inherited immunity, young animals can tolerate amounts of virulent material which, later in life, would never fail to produce a fatal issue. It is thus indicated that high resistance in livestock to certain prevalent diseases might be built up and maintained by resort to a procedure involving: 1) the artificial, active immunization of the breeding females, and 2) the transformation of any inherited resistance in the young into active immunity by means of infection at the proper time with virulent material.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Table IV. — Regarding the transformation of inherited (passive) immunity of young rabbits into active immunity.

Data on Mother		Interim to birth of young	Data on Infection and Immunity						
Band No.	Immunized		Inoc. No.	Band No.	Age	Date	Amount	Result	Period
519	May 5, 1911	6 m. 18 d.	723	81 A	30 d.	Dec. 23, 1911	0.01 c. c.	Alive	
519	„	„	724	81 E	30 d.	„	„	„	
694	Normal	.	721 Control	.	33 d.	„	„	† Dec. 24, 1911	Less than 18 hours
16 E	„	.	720 Control	55 D	6 m.	„	„	„	Less than 18 hours
519	May 5, 1911	6 m. 18 d.	723 Repeated	81 A	69 d.	Jan. 31, 1912	„	Alive	
519	„	„	788 Control	81 C	69 d.	„	„	† Feb. 1, 1912	14 hours
16 G	Normal	.	789 Control	78 E	72 d.	„	„	„	14 hours
519	May 5, 1911	6 m. 18 d.	723 Repeated	81 A	5 m.	May 1, 1912 [1])	0.1 c. c.	Alive	
16 D	Normal	.	803 Control	86 A	3 m.	May 1, 1912	0.01 c. c.	† May 2, 1912	18 hours
519	May 5, 1911	6 m. 18 d.	723 Repeated	81 A	2 yr. 25 d.	Dec. 18, 1913	0.1 c. c.	Alive	
519	„	„	724 Repeated	81 E	2 yr. 25 d.	„	„	„	
.	Normal	.	105 Control	.	About 1 yr.	„	„	† Dec. 19, 1913	12 hours

1) Also Aug. 2, 1912; immune.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

This procedure was first mentioned by Theobald Smith[1]) (l. c. p. 378) and has been put to a practical test by Reynolds[2]) in the case of hog cholera.

5. Resistance in the second generation from immune mothers. — The question has sometimes been raised. — Does inherited immunity endure to such a degree as to influence the offspring in the second generation? This question is difficult to answer and for the following reason: As has been shown in the last experiment (4), whenever a young rabbit, deriving resistance from its mother, is tested for immunity by the inoculation of virulent material, such a test-dose, provided the rabbit survives, serves to transform the inherited, passive immunity into an active resistance of considerable efficiency; and this new active immunity is durable, as opposed to the inherited resistance which is transient. Furthermore, when a doe, in which this transformation in type of immunity has occurred, is bred, her young would be regarded as having inherited immunity directly from their mother, rather than from their grandmother. Hence, an experiment, conforming to the conditions mentioned above would not throw light upon the inheritance of resistance by grandchildren. Apparently the only available method of experiment would be to divide a litter born to an immune mother. If after testing one portion of a litter by inoculation with virulent material, these were found to be resistant, it might be assumed that the others were also resistant; and these last could then be bred and their young tested. This plan of experiment has not yet been carried out, but it seems improbable that a resistance which is not efficient in the individual for more than the first thirty or forty days of life, could later be transmitted in any appreciable degree to the offspring.

In the original work, however, from which the present data are derived, certain females, immune by inheritance, and subsequently actively-immunized by the test-dose, given at the age of twenty or thirty days, were bred. The young were tested as indicated in Table V.

In this table it appears that female 519, immunized May 5, 1911, gave birth, November 23, 1911 to females 723 and 724 which were tested on December 23, 1911 with 0.1 c. c. and 0.01 c. c. of Culture 48, respectively. These young rabbits proved resistant and were subsequently tested at five other times, as indicated in the foot-note to Table V. Both rabbits gave several litters which were not tested for resistance and, on May 28, 1914, gave, each, a litter, individuals from which were tested as indicated in Table V. As explained above, it seems probable that had young rabbits 1086 and 1087 been inoculated with a smaller amount of Culture 48 they would have demonstrated resistance as did their brothers and sisters (1084, 1085). Young rabbit 1088, from another mother was resistant even to 0.01 c. c. of the virulent culture.

From these observations it is apparent that the second generation offspring from an immune female were immune, but that the immunity was in all probability due to the active resistance developed in the first generation mothers through the employment of the test dose of virulent culture. Although no other data than those presented bearing upon

1) Smith, Th., Journ. med. Research. Vol. 11. (2.) 1907. p. 359—379.
2) Reynolds, M. H., Amer. vet. Rev. Vol. 38. (2.) 1911. p. 236.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Table V. — Inherited acquired immunity in the grandchildren of immunized females.

Data on Grandmother and Mother					Interim to birth of young	Data on Infection of young				
Grandmother		Mother								
Band No.	Immunized with Culture 52	Band No.	Tested	Amount		Inoc. No.	Age	Data	Amount	Result
519	May 5, 1911	724 [6])	Dec. 23, 1911	0.1 c. c.	2 yr. 4 m. 3 d.	1086 [2])	17 d.	Apr. 15, 1914	0.01 c. c.	† 56 hours
519	„	724	„	„	„	1087 [2])	17 d.	„	0.01 c. c.	† 48 hours
519	„	724	„	„	„	1084 [1])	25 d.	Apr. 23, 1914	0.000,01 c. c.	Alive
519	„	724	„	„	„	1085 [1])	25 d.	„	0.000,001 c. c.	Alive [5])
519	„	723 [3])	„	0,01 c. c.	„	1088 [2])	17 d.	Apr. 15, 1914	0.01 c. c.	Alive [4])

1) Control pigeon died in 40 hrs.
2) Control pigeon died in 21 hrs.
3) The subsequent history of 723 was as follows:
February 29, 1912, received 0.001 c. c. of Culture 48.
May 1, 1912, received 0.01 c. c. of Culture 48.
August 2, 1912, received 0.01 c. c. of Culture 48.
January 30, 1913, received 0.1 c. c. of Culture 48.
December 18, 1913, received 0.1 c. c. of Culture 48.

4) Abscess and drainage, April 22, 1914.
5) Inoculated April 29, 1914, with 0.001 c. c. of Culture 48, and lives; pigeon control died in 15 hrs.
6) The subsequent history of 724 was as follows.
August 2, 1912, received 0.01 c. c. of Culture 48.
January 30, 1913, received 0.1 c. c. of Culture 48.
November 23, 1913, received 0.1 c. c. of Culture 48.
December 18, 1913, received 0.1 c. c. of Culture 48.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

this point are at hand, it seems wholly improbable that a degree of inherited resistance which endures for only about forty days could be transmitted to a subsequent generation.

Summary. — This paper presents data on the inheritance in rabbits of immunity to infection with the bacterium of fowl cholera (hæmorrhagic septicæmia). It is demonstrated 1) that, contrary to the results reported by Di Mattei (loc. cit.) female rabbits immunized by inoculation with a certain avirulent strain of the fowl cholera bacterium (Strain No. 52), are able to transmit to their offspring a high degree of resistance to a virulent culture; 2) that some mothers are able to produce such immune offspring for more than 2 years and 3 months after the date of immunization; 3) that resistance is not transmitted by immune males; 4) that, as a rule the inherited resistance of the offspring does not endure for more than 40 days; 5) that this transient, inherited, passive resistance can be transformed into a durable active immunity by inoculating the young animals, sometime within the first forty days of life with small amounts of virulent culture; 6) that this method of immunity-transformation may have a practical application in the protection of animals against infection.

Nachdruck verboten.

Die Kresolseifenlösungen des Handels und des Deutschen Arzneibuches, Ausgabe vier und fünf.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Kgl. Tierärztlichen Hochschule zu Berlin (Direktor: Geh. Regierungsrat Prof. Dr. Regenbogen).]

Von **August Lanz,** Veterinär.

Geschichte der Kresolseifenlösungen.

In dem Schatze unserer Desinfektionsmittel nehmen die Erzeugnisse aus dem Steinkohlenteer einen hervorragenden Platz ein. Seit 1865, wo Lister als erstes von ihnen die Karbolsäure in die Wundbehandlung einführte, hat sich ihre Zahl ungeheuer vermehrt, und immer noch ist man an der Arbeit, einmal, bekannte Präparate zu verbessern, und ferner, noch wirkungsvollere Desinficientien aus dem Steinkohlenteer zu erzielen.

Während zunächst die reine Karbolsäure, deren Desinfektionswert Robert Koch (1) in seiner grundlegenden Arbeit feststellte, allein das Feld beherrschte, da die im Handel befindliche „rohe Karbolsäure", die neben den gesamten Phenolen, wie Karbolsäure, Kresole, Xylenole u. a., noch Naphthalin, Paraffin, Benzin und andere Kohlenwasserstoffe enthielt, wegen ihrer ganz geringen Wasserlöslichkeit nicht in Betracht kam, bedeutete es einen großen Fortschritt, als 1887 durch Fröhner (2) die Aufmerksamkeit auf das Kreolin gelenkt wurde, das von Pearson & Co. in Hamburg in den Handel kam und als wirksame Stoffe, wie die chemische Analyse erwies, die Hauptbestandteile der „rohen Karbolsäure" enthielt, die durch eine Harzseife in eine emulgierbare Form gebracht

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

waren. Nach den Ergebnissen von Biel (3), Fischer (4), Lutze (5) bestand das Kreolin zu 66 Proz. aus indifferenten, aromatischen Kohlenwasserstoffen, wobei etwa 18 Proz. Naphthalin, 27,4 Proz. Phenolen höherer Konstitution mit nur Spuren von Karbolsäure, 2,2 Proz. pyridinähnlichen Basen und 4,4 Proz. Asche. Henle (6) fand etwas weniger Phenole und etwas mehr Pyridinbasen. Von den späteren Analysen will ich gleich im Zusammenhang hier noch die von Kochs (7) und Schneider (8) erwähnen. Kochs ermittelte 46,22 Proz. Kohlenwasserstoffe, 26,11 Proz. Harzsäuren, 15,07 Proz. Kresole, 7,97 Proz. Wasser, 2,91 Proz. Basen und 1,96 Proz. Asche. Schneider gibt folgende Zusammensetzung an: 24 Proz. Phenole, 53 Proz. Teeröle, 3 Proz. pyridinartige Basen, 12 Proz. wasserfreie Seife, die ein Gemisch von Harz- und Fettsäuren enthält, und 8 Proz. Wasser; nach ihm ist die früher schwankende Zusammensetzung des Kreolins jetzt eine konstante.

Gleichzeitig mit den Versuchen über das Kreolin fanden weitere Versuche statt, die „rohe Karbolsäure" als Desinfektionsmittel nutzbar zu machen und vor allem die Stoffe darin aufzufinden, denen der wesentliche Anteil an der Wirkung zukommt.

Hueppe (9) hat zuerst bei der Gewinnung der Orthophenolsulfosäuren, die sich weniger ätzend und stärker desinfizierend zeigten als das Phenol, die Vermutung ausgesprochen, daß in der „rohen Karbolsäure" neben Phenol noch andere stärker wirkende Stoffe enthalten sein müßten.

Laplace (10) zeigte, daß „25-proz. rohe Karbolsäure" hervorragende keimtötende Eigenschaften hat, wenn sie durch Zusatz einer gleichen Gewichtsmenge konzentrierter Schwefelsäure wasserlöslich gemacht wird.

Fränkel (11) fand ebenfalls, daß die Mischungen von Schwefelsäure mit „roher Karbolsäure" die mit reiner noch übertrafen. Daraus schloß er auf das Vorhandensein von stark keimtötenden Körpern in der „rohen Karbolsäure" selbst. Als solche erkannte er die Kresole und bewies ihre hohe Desinfektionskraft.

Gleichzeitig hat auch Delplanque (12) festgestellt, daß m-Kresol in seinen antiseptischen Eigenschaften die Karbolsäure übertrifft und ihr an Giftigkeit weit nachsteht.

Die „rohe Karbolsäure" bzw. die Kresole haben am meisten Verbreitung gefunden in der Mischung mit Seife, und auf diese Lösungen möchte ich näher eingehen, wobei ich von den technischen Präparaten nur die berücksichtige, die große Verwendung gefunden haben.

Bei seinen Untersuchungen über das Kreolin stellte Henle (6) Lösungen aus reinem Phenol resp. Kresol und Harzseife her und setzte, um die Mischung dem Kreolin möglichst ähnlich zu machen, noch Kreolinöl (Kohlenwasserstoffe) hinzu. Er fand aber auch, daß Seifenzusatz allein reines Phenol resp. Kresol gut löst und daß solche Mischungen eine erhebliche desinfizierende Kraft haben.

Schneider (13) empfahl, gleiche Mengen „100-proz. roher Karbolsäure" und Seife im Dampftopf zusammenzuschmelzen, um ein Produkt zu erhalten, das sich im Wasser vollständig löst bzw. emulgiert. Ueber die desinfizierende Kraft berichtet er nicht. Nocht (14), als dessen Vorgänger Behring (15) noch Damann nennt, goß in heiße, wässerige Seifenlösung die Karbolsäure unter starkem Umschütteln resp. Umrühren. Harzseife, Schmierseife oder gewöhnliche Waschseife leisteten dieselben Dienste. Die Desinfektionskraft solcher Karbolseifenlösungen prüfte er an

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lösungen mit 3 Proz. und 6 Proz. Seifengehalt; es zeigte sich dabei, daß der Seifengehalt nicht in Frage kam. Für die Praxis empfahl er 3-proz. heiße Seifenlösungen, in die bis zu 5 Proz. der „100-proz. Karbolsäure" hineingegossen werden kann.

Behring (15) hat nicht bloß rohe Karbolsäure und Kresole, sondern auch Steinkohlen- und Buchenholzteer in Seife aufgelöst und gefunden, daß dadurch, sowohl für eiweißfreie als auch für eiweißreiche Flüssigkeiten, ein Ersatz für die kostspielige Karbolsäure gewonnen werden kann.

Mittlerweile war auch von der Technik (Schülke & Mayr, Hamburg) eine Kresolseifenlösung auf den Markt gebracht worden, das Lysol, dessen hervorragende Desinfektionskraft Schottelius (16) zuerst feststellte und dessen chemische Untersuchungen zahlreiche Analytiker beschäftigte. Der Kresolgehalt betrug ca. 50 Proz.

Raupenstrauch (17) berichtet anläßlich seiner Untersuchungen über das Lysol über die Darstellung wasserlöslicher Teeröle mit Hilfe von Seifen. Er vermischte eine Lösung des Teeröls mit dem fetten Oele mit der zur Verseifung des letzteren nötigen Menge Alkali in wässeriger Lösung, setzte zur Beschleunigung der Verseifung noch eine entsprechende Menge Alkohol hinzu (konnte auch fehlen) und erwärmte das Gemisch auf dem Dampfbade mit Rückflußkühler. Nach vollständiger Verseifung in kurzer Zeit erhielt er eine homogene Flüssigkeit, welche mit Wasser in jedem Verhältnis eine klare Lösung gab. Diejenigen Fette, zu deren Komponenten die Stearinsäure gehörte, gaben weniger gut lösliche Präparate. Beim Ersatz der Fettsäuren durch Harze erhielt er nur bis zu einem Gehalt von etwa 15—20 Proz. an kohlenwasserstoffreichem Teeröl auf Wasserzusatz Lösungen, bei höherem Gehalt Emulsionen, ebenso beim Vermischen der meisten Teeröle mit fertigen Seifen; bei sehr phenolreichen Teerölen erzielte er durch Zusammenschmelzen mit Seife, insbesondere Schmierseife, wasserlösliche Präparate.

Im Nachtrag zum Deutschen Arzneibuch III. Aufl. wurde folgende Kresolseifenlösung offizinell: 1 Teil rohes Kresol und 1 Teil Kaliseife werden bis zur klaren Lösung erwärmt. Klare, gelbbraune Flüssigkeit.

1897 brachte dann noch die chemische Fabrik Franz Sander, Hamburg, ein hierhergehöriges Präparat in den Handel, das Bacillol, nach Fischer und Koske (18) ein Kresolgemisch, das mit Hilfe einer Seife löslich gemacht ist, die aus sulfuriertem, ölsaurem Natron und freiem Natron bestehen dürfte, mit einem Gehalt von 46,7 Proz. an wasserfreien Kresolen.

In der IV. Auflage des Deutschen Arzneibuches wurde für den Liquor Cresoli saponatus folgende Vorschrift gegeben: ein Teil Kaliseife wird im Wasserbade geschmolzen, darauf mit einem Teile rohen Kresol gemischt und die Mischung bis zur Lösung erwärmt. Klare, gelbbraune Flüssigkeit.

Die Verwendung dieser Kresolseifenlösung an Stelle des seit 1897 vorgeschriebenen Lysols oder der Karbolsäure wurde 1902 den Hebammen in Preußen gestattet, ja, wegen ihres billigen Preises sollten sie dieselbe nach Möglichkeit bevorzugen.

Die Untersuchung des Liquor Cresoli saponatus ergab, daß die im Handel befindlichen Präparate ziemlich inkonstant zusammengesetzt waren.

Von 8 untersuchten Kresolseifenlösungen stellten Fischer und Koske (18) bei 5 einen fast übereinstimmenden gleichguten Desinfektionswert fest, eine war ganz minderwertig, 2 standen den anderen 5,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wenn auch nur unerheblich, nach. Sie führen dies auf die Verwendung von nicht einwandfreiem Kresol zurück.

Fehrs (19), der 6 Präparate untersuchte, nennt als wesentlichen Grund ihrer verschiedenen Wirkung Unterschiede im Gehalt an den 3 isomeren Kresolen. Uebelmesser (20) zieht aus der Untersuchung von 9 Kresolseifenlösungen den Schluß, daß ihr Wirkungswert in direktem Verhältnis zu ihrem Kresolgehalte steht. Lysol zeigte sich wirksamer als die Kresolseifen. Arnold und Werner (21) haben verschiedentlich gefunden, daß einzelne offizinelle Kresolseifenlösungen weit weniger als 50 Proz. Kresol enthielten, manche hatten nur die Hälfte, ja nur $^1/_3$ der vorgeschriebenen Menge Kresol.

Schneider (22) erwähnt die Versuche Croners, der durch Analyse einer großen Reihe von Handelskresolseifen bestätigt, daß viele nicht den geforderten Gehalt von 50 Proz. Kresol besitzen. Dasselbe geht aus den Untersuchungen von Deiter (23) und Eger (24) hervor. Eger hat bis zu 30 Proz. herab Kresol gefunden.

Zur Beseitigung der Uebelstände wurde durch preußischen Ministerialerlaß vom 19. Oktober 1907 für Hebammen folgende Kresolseifenlösung vorgeschrieben: 60 Teile Leinöl werden in einem geräumigen, lose verschlossenen Glaskolben erwärmt und dann unter Umschütteln mit einer Lösung von 12 Teilen Kaliumhydroxyd in 30 Teilen Wasser und 6 Teilen Weingeist versetzt. Die erhaltene Mischung wird bis zur vollständigen Verseifung weiter erwärmt, worauf 100 Teile eines Kresols vom Siedepunkte 199—204° hinzugefügt werden. Die hieraus hervorgehende Flüssigkeit muß klar und gelbbraun sein.

Nach den angeordneten Untersuchungen sollte das Präparat dem Lysol nicht allein in den allgemeinen Eigenschaften gleichwertig sein, sondern es in bezug auf seine desinfizierende Wirkung noch übertreffen.

Der Erlaß stützt sich wohl auf die Arbeiten von Thoms (25), Thoms, Walter und Herzog (26) aus dem Pharmakologischen Institut Berlin. Thoms hatte in der Lysolseife bis zu 68 Proz. Fettsäuren ermittelt im Gegensatz zu 40 Proz. bei einer käuflichen offizinellen Seife und stellte gemeinsam mit Walter unter Benutzung verschiedener Oele mit 36-proz. Kalilauge Seifen mit so hohem Fettsäuregehalte her; eine fertig bezogene Leinölseife dampfte er auf $^2/_3$ ihres Gewichtes ein und erreichte dadurch die Konzentration. Auf Grund der Untersuchungsresultate empfahl er zur Herstellung einer dem Lysol ähnlichen Kresolseifenlösung eine aus Rüböl bzw. Leinöl bereitete Seife mit 70 Proz. Fettsäuregehalt, die mit dem gleichen Gewichte 100-proz. Kresolgemisches in der Wärme verrührt wird.

Herzog (26) schlug ein Kresolgemisch vor, in dem das o-Kresol als das minderwertige der 3 Isomeren ausgeschaltet sein sollte, mit dem Hinweis darauf, daß technische Schwierigkeiten seiner Herstellung nicht im Wege seien, da man nach Raschig (27) durch sehr sorgfältige und oft wiederholte fraktionierte Destillation das bei 188° siedende o-Kresol vollständig abscheiden kann und ein Gemisch von rund 60 Proz. m- und 40 Proz. p-Kresol erhält (Siedepunkt p-Kresol = 198°, m-Kresol = 201°). Zum Beweise für die Minderwertigkeit des o-Kresols führt er die Untersuchungsergebnisse von Fränkel (11) und Henle (6) an. Eine aus o-freiem Kresol hergestellte Kresolseifenlösung (60 Proz. m-Kresol, Leinölseife mit 70 Proz. Fettsäuren) hat dann auch nach Proskauer etwas stärkere Wirkung gezeigt (geprüft auf Staphylokokken, Agar- und

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bouillonkultur) als Trikresolleinölseife und war etwas wenig schwächer als Lysol.

Emde (28) verlangte ebenfalls eine Ausschaltung des o-Kresols in dem Rohkresol und führte zur Begründung die Arbeiten von Hammer (29) und Fehrs (19) an.

Erwähnt sei auch noch Deiter (23), der die beste Wirkung bei den Kresolseifen fand, die den höchsten Gehalt an m-Kresol besaßen, und auf Grund seiner Lysolanalyse, in dessen Kresol er nur geringe Mengen von o-Kresol ermittelte, ein aus 40 Proz. m- und 60 Proz. p-Kresol bestehendes Kresolgemisch vorschlug.

Diese Vorschläge blieben nicht ohne Widerspruch. Rapp (30) und eingehender noch Schneider (31) beleuchteten die Angaben von Henle (6), Fischer und Koske (18), Hammerl (32), Hammer (29), Seybold (33) und Fehrs (19) kritisch; Fränkel wird von Rapp nicht erwähnt, während Schneider seine Versuche ausschaltet, da er die Isomeren in Gemischen mit Schwefelsäure untersucht hat, was auf Gemische mit Seifen nicht übertragbar und anzunehmen ist, daß o-Kresol am leichtesten zur Esterifizierung und Sulfurierung neigt und infolgedessen die geringste Desinfektionskraft hat. Rapp faßt die Resultate seiner Versuche dahin zusammen, daß das o- dem p-Kresol an bakterizider Wirksamkeit gleich- und dem m-Kresol nur wenig nachsteht. Schneider bemerkt dazu, daß die von Rapp gewählte Verdünnung mit Glyzerin bei Karbolsäure den Desinfektionswert herabsetze (34). Sodann führt Schneider seine eigenen Versuche an, die unter Bedingungen ausgeführt wurden, wie sie für Liquor Cresoli gegeben sind. Er stellte dabei (22) gleiche Wirksamkeit von o- und p-Kresol fest. Zwischen m-p-Gemisch und Trikresol war kein Unterschied; m-Kresol war ein klein wenig wirksamer als die anderen. Nach der eingehenden Würdigung der vorerwähnten Literatur, wobei er den Wert auf die einzelnen Tabellen und nicht auf die Schlußfolgerungen legt, die bei Fehrs direkte Widersprüche zueinander aufweisen, faßt Schneider dahin zusammen, daß von 8 Untersuchern zum Teil größere, zum Teil geringere Ueberlegenheit von m-Kresol festgestellt ist; bezüglich der anderen Isomeren ist von Fehrs Ueberlegenheit von o- gegenüber p-Kresol unzweideutig festgestellt, von 5 Gleichwertigkeit der beiden ermittelt (ich möchte hier auch noch das Urteil von Thomann (35) einschalten, nach dem das reine o-Kresol dem m- und p-Kresol an bakterizider Wirksamkeit nicht nachsteht); Henle konstatiert eine ausgesprochen bessere, Hammer und Seybold nur unter gewissen Bedingungen eine solche von p-Kresol. Von Hammer ist eine Ueberlegenheit von Trikresol gegenüber den 3 Isomeren und von m-p-Gemisch, von Schneider Gleichwertigkeit von Trikresol und m-p-Gemisch festgestellt. Somit bleibt als einzige Grundlage für die Ausschaltung von o-Kresol Proskauers Untersuchungsergebnis der ihm von Thoms überwiesenen Kresolleinölseife I (m-p-Gemisch) gegenüber Seife II (Trikresol), was Schneider dadurch erklärt, daß sich bei technischen Trikresolen und auch bei recht guten von anscheinend chemisch gleichwertiger Beschaffenheit oft bemerkenswerte Unterschiede hinsichtlich ihrer bakteriziden Wirksamkeit finden [eine Beobachtung, die nach Seligmann (36) und Arnold (37) auch für das Kresol vom Siedepunkt 199—204° zutrifft] und daß ein solches Präparat Thoms vielleicht vorlag. Auch Schneiders nochmalige Versuche mit den reinen isomeren Kresolen in Gegenwart einer fettsäurereichen Leinölseife zeigten, daß Unterschiede von prak-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tischer Bedeutung zwischen den einzelnen Kresolen nicht bestehen und daß Gemische der Kresolisomeren gleichmäßiger und etwas besser wirken als die einzelnen Kresole. Auch Rapp (38) betont nochmals in einer späteren Arbeit, daß Ausschalten eines der 3 Isomeren, speziell des o-Kresols, keine stärker desinfizierenden Präparate ergibt, im Gegenteil, er gibt sogar solchen Rohkresolgemischen den Vorzug, die besonders reich an der Orthoverbindung sind.

Zwei Worte über die bakterizide Kraft der Xylenole, die auch in dem Rohkresol vorkommen und innerhalb der Siedegrenzen der Kresole mitüberdestillieren (die Siedepunkte der 6 Isomeren liegen zwischen 209 und 222°), möchte ich hier einfügen.

Nach Laubenheimer (39) und Rapp (38) nimmt die antiseptische Kraft der Phenole zu, wenn Kernwasserstoffe durch die Methylgruppe ersetzt werden. Die Reihe ist dann folgende: Phenol < Methylphenol = Kresol < Dimethylphenol = Xylenol. Laubenheimer stellte fest, daß durch Seifen wasserlöslich gemachte Xylenole Staphylokokken gegenüber Desinfektionsmittel von hervorragender Wirksamkeit sind.

Ein Punkt, der bei der Auswahl eines Desinfektionsmittels wohl zu berücksichtigen ist, ist seine Giftigkeit, die, wenn sie bei einem der 3 Kresolisomeren in erhöhtem Maße vorhanden wäre, seine Ausschaltung aus dem Gemisch bedingen könnte.

Schon Delplanque (12) fand anläßlich seiner Desinfektionsversuche mit m-Kresol die toxische Wirkung desselben 4mal geringer als die der Karbolsäure. Spätere Untersucher: Meili (40), Schütz (41), Seybold (33), Hammerl (32) und Tollens (42) erkannten es als das ungiftigste der 3 Isomeren.

Von p-o-Kresol und Karbolsäure stellt sich nach den verschiedenen Autoren die Dosis letalis, wie folgt:

	p-Kresol	o-Kresol	Karbolsäure
Meili, Kaninchen	0,3—0,4	0,45—0,5	0,5—0,55
Schütz, glatthaar. Meerschw.	.	.	0,3
Seybold, „ „	0,25—0,5	0,75[1])	0,4
Hammerl, „ „	0,4—0,5	0,6—0,75	0,75[1])
Tollens, Frosch	0,15	0,20	0,10
„ Maus	0,15	0,35	0,35
„ Katze	0,08	0,09	0,09

Dazu ist zu bemerken, daß Meili die Verdünnung mit Paraffinum liquidum hergestellt hat. Hammerls Angaben beziehen sich auf die Dosis letalis minima, welche imstande ist, innerhalb der ersten 24 Stunden den Tod herbeizuführen.

Auffallend ist die durchweg stärkere Giftwirkung, die Tollens bei seinen Versuchen an Fröschen, Mäusen und Katzen ermittelte. Bei Katzen tragen wir ihr in der Desinfektionspraxis schon lange Rechnung, indem wir bei ihnen keine Kresolpräparate anwenden.

Bezüglich der Isomeren o- und p-Kresol ist nach allen Untersuchern (die Versuche an dem Kaltblüter ausgeschaltet) p-Kresol giftiger als o-Kresol und Karbolsäure. o-Kresol ist von Meili und Hammerl giftiger, von Tollens gleich giftig, von Seybold weniger giftig gefunden als die Karbolsäure. Ein Grund, wegen seiner Giftigkeit das o-Kresol aus dem Kresolgemisch auszuschalten, liegt demnach nicht vor.

1 Reichten noch nicht aus.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das Trikresol steht nach Aronson (43) und Hammerl (44) an Giftigkeit dem Phenol nach. Nach Grigorjeff (45) ist es 4mal weniger giftig; dasselbe geht aus Gerlachs (46) Untersuchungen hervor, der in Uebereinstimmung mit Remonchamps und Sugg (47) das Lysol 8mal weniger giftig fand als Phenol.

Die neue Kresolseifenlösung nach Ministerialerlaß vom 19. Oktober 1907 war bald der Gegenstand eingehender Untersuchungen.

Schneider (48) prüfte mit garantiert dem Erlaß entsprechenden Kresol von Raschig selbst hergestellte, sowie fertig bezogene Kresolseifenlösungen im Vergleich zu Lysol und hat nicht in einem einzigen unter 21 Fällen die Ueberlegenheit der neuen Kresolseife feststellen können. Die Ueberlegenheit des Lysols machte sich besonders in schwächeren Lösungen ($^1/_2$ Proz.) bemerkbar.

Auch Seligmann (36), der aus 3 Fabriken stammende Kresole vom Siedepunkt 199—204° benutzte, fand die neue Kresolseife weder dem Lysol noch dem Liquor Cresoli saponatus D. A.-B. IV. überlegen.

Rapps (38) Versuche zeigen ebenfalls, daß das neue Präparat das Lysol an Desinfektionskraft nicht erreicht.

Schottelius (49) und Ahlfeld (50) beurteilen den Preis des neuen Präparates.

Arnold (37) hat 15 Proben der für Hebammen bestimmten Kresolseifen aus verschiedenen Fabriken und Apotheken mit dem Resultat analysiert, daß nicht eine der anderen gleich war und nur eine einzige der Verordnung entsprach. Nach Erlaß des Deutschen Arzneibuches V. Aufl. untersuchte er 12 weitere Proben, von denen nur 2 den Vorschriften einigermaßen entsprachen. Der Kresolgehalt schwankte zwischen 54 und 34 Proz., der Wassergehalt zwischen 14,5 und 37 Proz., der Seifenrückstand zwischen 22 und 40 Proz., die spezifischen Gewichte zwischen 1,029 und 1,071. Auch die Beschaffenheit der Kresole resp. deren Siedepunkt hat, mit einer Ausnahme, die Anforderungen nicht erfüllt.

Lucas (51), der seit dem Erscheinen des neuen Arzneibuches dem Cresolum crudum die größte Aufmerksamkeit zugewandt hat, betont, daß er noch kein Kresol gefunden hat, das allen Anforderungen entsprach.

Auch Lehmann (52) berichtet, daß von den vielen im Pharmakologischen Institut Königsberg untersuchten Kresolproben die Mehrzahl minderwertig war.

Hellriegel (53) bezeichnet den Liquor Cresoli als eines der am meisten „individuell" dargestellten Handelspräparate, von denen so manches nichts weniger als Arzneibuchware ist. Zu der Untersuchung eines als „garantiert Arzneibuchware" gelieferten Liquors, der nur 42 Proz. stark mit Naphthalin verunreinigtes Kresol enthielt, und dessen Seife einen reichen Gehalt an Harzen aufwies, bemerkt er, daß ihm derartig minderwertige Präparate schon oft in die Hand gekommen sind.

Die Kresolseifenlösung des Deutschen Arzneibuches V. Aufl. entspricht im großen und ganzen der durch den preußischen Ministerialerlaß für Hebammen vorgeschriebenen. Das darin geforderte Kresol vom Siedepunkt 199—204° wurde beibehalten und genaue Prüfungsvorschriften für die Reinheit desselben gegeben, ebenso wie für die Kresolseifenlösung, für die eine Prüfungsvorschrift in der IV. Auflage überhaupt nicht vorhanden war. Das verwandte Rohkresol ist kein eigentliches Rohkresol mehr, sondern rohes m-Kresol mit einem Mindestgehalt von 50 Proz. m-Kresol. Das o-Kresol ist durch die Siedepunkts-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bestimmung ausgeschaltet. Der Gesamtkresolgehalt ist im Vergleich zu dem Rohkresol der IV. Auflage von 85—90 Proz. auf mindestens 90 Proz. heraufgesetzt worden.

Das Verhältnis von Kresol zur Seife ist, wenn man den bei Bereitung der Seife des preußischen Ministerialerlasses durch Verdunstung bedingten Verlust in Abzug bringt, bei allen 3 Kresolseifen dasselbe (1 : 1). Die verwendeten Seifen sind immer konzentrierter geworden, was aus folgender Tabelle hervorgeht:

	Seife des		
	Liq. IV	Min.-Erl.	Liq. V
Leinöl	60,0	60,0	60,0
Kaliumhydroxyd	12,15	12,0	13,5
Wasser	68,85	30,0	20,5
Weingeist	6,0	6,0	6,0

Ueber die Bedeutung der Seife in der Kresolseifenlösung.

Bei der bisherigen Betrachtung wurde ein wesentlicher Bestandteil der Kresolseifenlösung, die Seife, in ihrer Bedeutung zu wenig berücksichtigt; es bliebe noch übrig, darauf näher einzugehen. Ich fasse mich kurz, da Laubenheimer (39) eine übersichtliche Zusammenstellung der Literatur gibt.

Die Widersprüche, die schon in den ersten Arbeiten über Karbolseifen von Henle (6), Raupenstrauch (17) und Nocht (14) zutage treten, von denen die beiden ersten die Erhöhung der bakteriziden Kraft des Desinfektionsmittels durch Seifenzusatz betonen, während der andere den Seifengehalt für belanglos hält, sind durch spätere Arbeiten nicht restlos erklärt.

Während auf der einen Seite Nyland (54), Kampe (55), auch Reithoffer (56) unter gewissen Bedingungen, den Seifenzusatz für die Desinfektionskraft der Phenole für hinderlich halten, was sie durch Bindung der Phenole durch das Alkali der leicht dissoziierbaren Seife erklären, und Uebelmesser (20), Fehrs (19), Jolles (57), Maaz (58) und Deiter (23) ihn für nebensächlich ansehen, messen ihm auf der anderen Seite Heller (59), Schneider (22) und Rasp (60) einen wesentlichen Einfluß bei; sie sprechen von einem bestimmten Verhältnis von Desinfektionsmittel und Seife zum Maximum der Desinfektionswirkung. Nach Schneider (22) verringert freies Alkali der Seife die bakterizide Kraft der Kresole durch Bildung von wenig wirksamem Kresolalkali, was Rasp bei seinen Versuchen bestätigt fand. Auch die Art der Fettsäuren fand Schneider von erheblichem Einfluß.

Laubenheimer (39) konnte bei seinen ausgedehnten Untersuchungen bestätigen, daß die Art und Menge der als Lösungsmittel dienenden Seife von großer Bedeutung für die Desinfektionskraft ist.

Auch Rapp (38) bestätigt den Einfluß der Seife an sich und die Bedeutung der Seifenart. Mit Lysolkresolen gab Leinölfettsäureseife bessere Wirkung als Oelsäureseife; Stearinsäureseife war auffallend schlecht, nicht aber Palmitinsäureseife. Zusätze von Harzseifen erhöhten die desinfizierende Kraft der Lysolseife. Firnisseifen oder Waschseifen als Zusätze zu Kresolen zeigten keine Vorzüge. Zu Thoms (25) steht er in gewissem Gegensatz, da er einen bemerkenswerten Unterschied in der Wirkung von Kresolseifen mit verschiedenem Seifen resp. Fettsäuregehalt nicht beobachten konnte. Auf demselben Standpunkte steht auch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Deiter (23). Zu Schneider (22) und Rasp (60) setzt sich Rapp ebenfalls in Widerspruch, da Ueberschuß der Seife an Alkali keine besonders schwächere Wirkung ergab, mit welchem Befunde er auch nicht allein steht, denn Heider (61) spricht sogar von einer Ueberlegenheit von Kresolschmierseifenlösungen, die mit alkalischer Seife bereitet waren, gegenüber solchen, die neutrale Seife hatten.

Chemischer Teil.

Ueber die chemische Untersuchung von Kresolseifen und ähnlichen Präparaten sind seit dem Erscheinen des Kreolins eine Reihe von Methoden ausgearbeitet worden, über die Deiter (23) eine Zusammenstellung gibt. Ich will von den älteren Methoden nur auf die eingehen, die größere Anwendung gefunden haben, speziell aber auf die neueren für die Untersuchung des Liquor Cresoli bestimmten.

Man kann sie in 3 Gruppen einteilen.

I. Ausscheiden einer festen Seife, Zersetzen der Kresolseifenlösung, Ausschütteln und titrimetrische Bestimmungen.

Nach einer Kritik über einige Untersuchungsarten der mit Seifen versetzten Teerprodukte geben Ditz und Clauser (62) eine eigene Methode an, die darauf basiert, die Trennung der Phenole von den Fettsäuren durch Ausscheidung der letzteren als unlösliche Salze zu bewirken. Nach Zusatz von Natronlauge zwecks Bildung der Phenolalkalien zu dem in Wasser gelösten Präparate werden die Kohlenwasserstoffe durch Ausschütteln mit Aether entfernt und bestimmt, alsdann zu der mit Aether ausgeschüttelten Lösung nach der Neutralisation mit Salzsäure Bariumchlorid im Ueberschuß sowie eine dem Kresolgehalte annähernd gleiche Menge Barytwasser zugesetzt; es wird Bariumoleat gefällt und nach dem Spülen mit Salzsäure zerlegt, im Filtrate werden die Kresole nach der Bromid-Bromat-Methode von Koppeschaar bestimmt.

Eine ähnliche Methode ist die von der Lancet-Kommission (63) angewandte sogenannte Aceton-Baryt-Methode, bei der durch Behandlung des Präparates mit Bariumoxydhydrat im Ueberschuß die Phenole in wasserlösliche Bariumsalze übergeführt, die Seife als Barytseife und die Teeröle in unlöslicher Form ausgefällt werden. Die wässerige Phenol-Bariumsalzlösung wird abfiltriert; durch Behandlung der mit den neutralen Teerölen durchsetzten Barytseife mit Aceton werden diese in Lösung gebracht, und die Barytseife bleibt unlöslich zurück. Rideal (64) und Schneider (8), die die Methode kritisieren, halten es nicht für zutreffend, daß die Phenole leicht lösliche Bariumsalze bilden, ferner weist noch Schneider darauf hin, daß Barium-, Harz- und Fettseifen in Aceton nicht vollständig unlöslich sind. Die Methode ist übrigens ebenso wie die erstere zu umständlich.

Denselben Vorwurf macht Deiter (23) seiner eigenen Methode, nach welcher er die Trennung der wesentlichen Bestandteile durch Umwandlung der leicht löslichen Kaliseife in die schwerer lösliche Natronseife mittels kochsalzhaltiger Natronlauge herbeiführt; nach seinen eigenen Angaben ist das Verfahren bei Vorhandensein von Harzseifen infolge der Leichtlöslichkeit der abietinsauren Salze auch nicht genau.

Als eine primitive Methode ist die von Clessler (65) zu bezeichnen. Durch Salzsäure wird auf dem Wasserbade der Liquor Cresoli

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zersetzt; nach Absetzen der ausgeschiedenen Kresolfettsäureschicht wird auf Zusatz von Kochsalz und Glyzerin das Flüssigkeitsgemenge geschüttelt und nach 36-stündigem Stehen die klare, braune Oelschicht abgelesen; durch Subtraktion ergibt sich dann die Anzahl der von dem Glyzerin gelösten Kubikzentimeter Kresole. Uebelmesser (20) benutzte diese Methode zu seinen Kresolseifenanalysen. Arnold und Werner (66) erzielten nach ihr 10—12 Proz. weniger Kresole als nach ihrer eigenen.

Schmatolla (67), der zuerst nach Erscheinen der offizinellen Kresolseifenlösung Prüfungsverfahren für dieselbe veröffentlichte, hat mehrere Methoden angegeben. Er nimmt das freie Alkali durch eine Kochsalzlösung von bestimmter Zusammensetzung auf, mit der er nach Aetherzusatz die Kresolseife schüttelt, und bestimmt es darin durch Titration; nachdem er das Gesamtalkali dann ebenfalls durch Titration in der nach Schütteln der Kresolseife mit einer Mischung von Salzsäure und Kochsalzlösung unter Petrolätherzusatz abgeschiedenen Flüssigkeit ermittelt hat, berechnet er aus der Differenz die Fettsäuren mit Hilfe des Faktors der Oelsäure. Er hat auch eine Methode angegeben, nach der er direkt aus dem durch Schwefelsäure abgeschiedenen Kresolfettsäuregemisch, das mit Alkohol verdünnt wird, die Fettsäuren titrimetrisch ermittelt. Bei beiden Methoden werden die Kresole, nachdem die Kohlenwasserstoffe durch Versetzen der Kresolseife mit Kalilauge und Ausschütteln mit Petroläther aus letzterem ermittelt sind, durch Berechnung gefunden. Arnold und Mentzel (68) konnten nach dieser Methode das freie Alkali nicht bestimmen, da eine glatte Trennung der ätherischen von der wässerigen Schicht ausblieb: Deiter hingegen ist dies in allen Fällen gelungen. Die Bestimmung der Fettsäuren aus dem durch Schwefelsäure ausgeschiedenen Kresolfettsäuregemisch empfiehlt Deiter nicht, da oft infolge der dunklen Farbe desselben, sogar nach reichlichem Alkoholzusatz, bei der Titration ein Farbenumschlag nicht zu erkennen ist. Schmatolla hat noch eine weitere Prüfung auf den Kresolgehalt der Kresolseife angegeben, wobei er ihn aus der Menge und dem spezifischen Gewicht der durch Schwefelsäure ausgeschiedenen Kresolfettsäurelösung berechnet. Bindet man in dieser Lösung die Kresole an Natronlauge und entfernt sie, so können nach Zersetzung der Seife durch Salzsäure die Fettsäuren geprüft werden, ebenso können die Kresole aus der Kresolnatronlauge durch Zersetzen mit Salzsäure und Ausschütteln mit Aether erhalten und untersucht werden. Deiter, der die Methode von Schmatolla zur Untersuchung von Kresolseifenpräparaten benutzte, macht ihr den Vorwurf, daß sie die Bestandteile nicht direkt bestimmt, sondern durch theoretische Berechnung ermittelt.

Bemerken möchte ich noch, daß die qualitative Ermittelung Schmatollas von Verunreinigungen der Kresolseife (Harzseife, Kohlenwasserstoffe) in die Prüfungsvorschrift des Deutschen Arzneibuches, allerdings abgeändert, übernommen ist, denn Schmatolla hat darauf hingewiesen, daß starke Trübungen auch bei neutraler und übersäuerter Seife auftreten, und empfohlen, vorher den Liquor mit ganz wenig Kalilauge zu erwärmen. Raschig (69), dessen Angaben von Schwarz (70) und Wolter (71) bestätigt werden, fand bei seinen Untersuchungen. daß eine Trübung das Vorhandensein des vorgeschriebenen oder eines an m-Kresol noch reicheren Kresols beweist und nicht typisch ist für die Verunreinigung mit Kohlenwasserstoffen. Bei meinen Untersuchungen fand ich, daß die Probe Harzzusatz nicht anzeigt; Raschigs Angabe

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fand ich bestätigt, doch scheint die Trübung auch noch andere Ursachen zu haben.

Deiter (23), von dessen Untersuchungen ich schon gesprochen habe, baute ein weiteres Verfahren aus, wobei er die Flüchtigkeit der Kresole mit Wasser benutzt, und das von Serger (72) empfohlen wird. Die Kresolseifenlösung wird unter Wasserzusatz auf dem Wasserbade eingedampft; der Rückstand besteht in der Hauptsache aus Seife, in der er auf verschiedeue Weise die Fettsäuren ermittelt. Die Kresole werden durch Differenzbestimmung gefunden, indem er durch Schütteln mit Kochsalzlösung und Salzsäure unter Zusatz von Petroläther Kresole und Fettsäuren zum Abscheiden bringt; nach Abzug der schon vorher ermittelten Fettsäuren und des Petroläthers ergibt sich dann der Gehalt an Kresolen, von denen noch die Kohlenwasserstoffe abzuziehen sind, die durch Schütteln der Kresolseifenlösung mit Kalilauge, Zusatz von Aether-Petroläther, mit dem nicht geschüttelt, sondern nur auf- und abbewegt werden darf, aus letzterem ermittelt werden.

Kellers (73) Untersuchungsmethode, die viel Aehnlichkeit mit der von Schmatolla und der Deiterschen Abänderung derselben hat, hat den Vorteil, daß an einem abgewogenen Quantum die ganze Bestimmung durchgeführt wird. Er zersetzt die Kresolseife durch kochsalzhaltige $n/_2$-Salzsäure unter Aetherzusatz; wenn nach dem Schütteln Klärung eingetreten ist, hat er 2 Flüssigkeiten: 1) die Aetherlösung, die Fettsäuren, Kresole und Kohlenwasserstoffe enthält, 2) eine sauerwässerige Flüssigkeit mit der nicht zur Zersetzung der Seife verbrauchten $n/_2$-Salzsäure, sowie dem Glyzerin. Er bestimmt aus der sauerwässerigen Flüssigkeit durch Titration das Gesamtalkali, aus der Aetherlösung die Fettsäuren und Kresole, und zwar aus der einen Hälfte nach Abdestillieren des Aethers, Trocknen des Rückstandes und Lösen desselben in Weingeist und Wasser unter Zusatz von pulverisiertem Talk durch Titration der Fettsäuren; aus der anderen Hälfte, nachdem er im Scheidetrichter die Kresole an Kalilauge gebunden und abgelassen hat, durch Verdampfen des Aethers und Trocknen des Rückstandes die Kohlenwasserstoffe. Durch Differenzbestimmung findet er dann den Kresolgehalt, ferner das freie Alkali, nachdem er das an Seife gebundene durch Multiplikation des Prozentgehaltes an Fettsäuren mit 0,2 ermittelt hat.

Zur Beurteilung der Methoden von Deiter und Keller gilt das über Schmatolla Gesagte. Der wesentliche Bestandteil der Kresolseife, die Kresole, wird nicht direkt, sondern durch Differenzbestimmung ermittelt.

II. Fraktionierte Destillation.

Die fraktionierte Destillation zur Trennung der Phenole von dem Seifenkörper wurde von Raupenstrauch (17) zuerst angewandt.

Blomquist (74), der sie unter Steigerung der Temperatur bis auf 210° C empfiehlt, bemerkt dazu, daß es nicht möglich ist, alle Phenole überzudestillieren, und schlägt deshalb eine Korrektur vor.

Von neueren Untersuchern wenden Arnold und seine Mitarbeiter (68, 21, 66, 37) die Methode dauernd an zur Kontrolle des Lysols; sie wird meist auch nach ihm benannt. Um bei den hohen Temperaturen eine Zersetzung der Seife zu vermeiden, gingen sie zur Destillation unter vermindertem Druck über. Die mit den Kresolen übergehenden Neutralöle werden durch Schütteln des Kresolgemisches mit 8-prozentiger Natronlauge unter Zusatz von Petroläther ermittelt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das Arnoldsche Verfahren, das auch vom Verein analytischer Chemiker in Schwyz (75) angegeben wird, ist von verschiedenen Analytikern, wie Utz (76), Eger (24), Deiter (23) und Warnecke (77) günstig beurteilt und wegen seiner Einfachheit und schnellen Durchführung empfohlen worden.

Schmatolla weist darauf hin, daß eine Temperatursteigerung bis auf 300° C erforderlich ist, wenn sämtliche Kresole überdestillieren sollen, wodurch natürlich Zersetzung der Seife eintritt. Nach Aufrecht (78) führen die Destillationen unter gewöhnlichem sowie unter vermindertem Druck oft zu großen Fehlern; es ist ganz unmöglich, die Fettsäuren absolut kresolfrei zu erhalten, die Ursache ist wohl eine Esterbildung, die zwischen Fettsäuren und Kresolen statthat.

Von einigen Analytikern ist die Arnoldsche Methode abgeändert worden. Thoms (25) neutralisiert erst mit verdünnter Salzsäure und destilliert dann unter gewöhnlichem Druck über. Rapp (38) sucht durch Glyzerinzusatz die Zersetzung der Seife zu verhindern. Schneider (8), der die Methode zur Untersuchung teerölhaltiger Desinfektionsmittel anwandte, fand, daß hierbei Glyzerinzusatz nicht angebracht ist. Er destillierte unter Zusatz von geglühtem Natriumsulfat oder geglühtem Tonpulver.

III. Wasserdampfdestillation.

Als die einwandfreieste Methode ist die Destillation mit Wasserdampf nach vorherigem Ansäuern zu bezeichnen, die auch in die Prüfungsvorschrift des Deutschen Arzneibuches, V. Aufl., aufgenommen ist. Sie ist zurückzuführen auf Fresenius und Makin (79), die ihre Genauigkeit auf 2—3 Proz. der Phenolmenge und ebensoviel des Fettsäuregehaltes festsetzen. Nach Spalteholz (80) ist Säurezusatz nicht nötig, es genügt Destillation mit überhitztem Wasserdampf von 210—220° C. Darüber hinaus darf nicht gesteigert werden, weil schon bei 220° C Oleinseife bei Gegenwart von Wasserdampf gespalten wird und Olein mitübergeht, was an der Oelschicht auf der Oberfläche des Wassers zu sehen ist. Seine Werte fielen $^1/_2$ Proz., höchstens 1 Proz. niedriger aus als die berechneten, er hat das Destillationsprodukt mit Benzol ausgezogen, das Wasser abgeschieden und die Phenole im Benzolauszuge mit Natronlauge bestimmt. Die Fassung der Vorschrift im Arzneibuche geht auf Fischer und Koske (18) zurück. Bei ihren Genauigkeitsprüfungen des Verfahrens ergab sich folgendes: 1) Nach der Abdestillation des Aethers genügt ein Trocknen von 40 Minuten bei 100° C; 2) man kann Kresol ohne nennenswerten Verlust trocknen; 3) es gehen nur ganz geringe Mengen flüchtiger Fettsäure mit über; bei der Destillation von Kaliseife allein — 11,93 g — waren es 0,03 g; 4) bei einer selbst bereiteten Kresolseifenlösung ergab sich eine Differenz von 0,3 g der angewandten 10,7 Kresol = 2,80 Proz.

Arnold und Werner (66) bezeichnen die Methode als ziemlich gut. Sie ermittelten in 49,4 g übergegangenen Kreselen 3,4 g Zersetzungsprodukte der Seife, die mitüberdestilliert waren.

Nach Aufrecht (78) wird durch die Wasserdampfdestillation im Gegensatz zur trockenen Destillation eine Esterbildung vermieden und eine relativ gute Trennung der Kresole von den Fettsäuren erreicht. Ein Verlust an flüchtigen Fettsäuren kann nach ihm aus dem Grunde nicht stattfinden, weil in keiner Seife so erhebliche Mengen flüchtiger Fettsäuren vorhanden sind. Seine Nachprüfung war dementsprechend negativ.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kochs (7) und Schneider (8) haben die Methode zur Untersuchung von Kreolin angewandt. Schneider findet dabei lästig die lange Dauer der Destillation, die Entstehung zu großer Flüssigkeitsmengen und den zu großen Aetherverbrauch. Kochs versetzte das Kreolin mit Natronlauge, um freie Phenole zu binden, und destillierte die Kohlenwasserstoffe und Basen über; alsdann erst erfolgte die Destillation der Kresole.

Eger (24) bestreitet nicht die Güte der Methode bei genauerem Arbeiten, doch ist sie ihm zu umständlich und zeitraubend. Rapp (38) bezeichnet sie als einwandfrei.

Eigene Versuche über die Wasserdampfdestillation.

Zu meinen eigenen Untersuchungen wandte ich auch die Wasserdampfdestillation an. Da ich bei den Vorversuchen nach 40 Minuten langem Trocknen bei 100° C die Kresolmenge öfters noch größer fand, als die Berechnung ergab, stellte ich Genauigkeitsprüfungen über die Methode an: 1) Um zu ermitteln, welche Mengen von flüchtigen Fettsäuren aus der Seife bei der Destillation der Kresolseifenlösung mitübergehen, bestimmte ich erst in einer nach Vorschrift des Deutschen Arzneibuches über die Kresolseifenlösungen selbst hergestellten Seife den Gehalt an Fettsäuren nach der Methode des Deutschen Arzneibuches; ich ermittelte in 10 g Seife 6,04 g Fettsäuren; nach der Destillation der mit dieser Seife hergestellten Kresolseifenlösung betrug die Menge der im Destillationskolben zurückgebliebenen Fettsäuren aus 20 g Liquor Cresoli, nach der Arzneibuchmethode bestimmt, 6,02 g, nach der Wachsmethode 6,00 g, es waren also nur ganz minimale Mengen Fettsäuren mitüberdestilliert.

2) Ueber das Trocknen der Kresole sind die Ansichten der Autoren keineswegs übereinstimmend. Die Versuche von Fischer und Koske (18) darüber sind schon angegeben. Auch nach Lunge (81) soll der bei Analyse eines Gemisches von Phenolen und Kresolen selbst nach 2—3-stündigem Trocknen bei einer Temperatur von 100—110° C eintretende Verlust an Phenolen vollkommen irrelevant und für das Resultat belanglos sein.

Deiter (23) kann dieser Ansicht auf Grund seiner Erfahrungen nicht beitreten. Er hat bei nur 2-stündigem Trocknen des Trikresols im Trockenschrank bei nur 102° C gefunden, daß sogar erheblich zu nennende Verluste eintraten. Um dies zu vermeiden, trocknete er im Wasserbade; dabei verflüchtigte sich aber selbst der vorhandene Aether nicht mehr. Beim Ersatz der Glyzerinfüllung des Trockenschranks durch destilliertes Wasser, wodurch eine Erniedrigung der Temperatur auf 98° C eintrat, ließ sich bei 2-stündigem Trocknen von 5 g Kresol noch ein Verlust von 0,88—0,95 Proz. ermitteln. Um die Zeit festzustellen, in der die aus 5 g Kresolseifenlösung gewonnenen Kresole vom Aether befreit und getrocknet sind, hat er 2,5 g Kresol mit 2 g Aether gemischt, so viel, als gewöhnlich nach dem Abdestillieren zurückbleibt, und gefunden, daß bei 98° C ein Trocknen von 4 Stunden dazu erforderlich ist. Auch Hellriegel (53) betont, daß beim Trocknen bei 100° C schon ein Teil des Kresols verdampft, während bei niedriger Temperatur die Trennung des Kresols vom Aether nicht völlig gelingt. Er empfiehlt deshalb, den Aether bei gewöhnlicher Temperatur im Vakuum abzusaugen und den Kresolrückstand zu konstantem Gewicht zu bringen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ich trocknete zuerst rohes Kresol, das als dem Deutschen Arzneibuche, V. Aufl., entsprechend aus 2 Fabriken bezogen war:

	I.	II.
Kolben + Rohkresol bei Beginn	59,41 g	56,08 g
nach 20 Min. Trocknen bei 100°	59,38 „	55,91 „
„ 40 „ „ „ „	59,35 „	55,83 „
„ 60 „ „ „ „	59,32 „	55,78 „
„ 80 „ „ „ „	59,30 „	55,75 „
„ 100 „ „ „ „	52,28 „	55,72 „
Kolben leer	49,06 „	45,82 „
Differenz nach 60 Minuten	0,09 g	0,30 g

Bei Präparat I (in der Tabelle ist es unter No. 4 aufgeführt) ergibt sich eine um 0,01 g geringere Differenz bei einstündigem Trocknen als bei Fischer und Koske. Es erwies sich später als ein gutes Kresol. Bei Präparat II (in Tabelle No. 5) ist der größere Verlust auf Wassergehalt zurückzuführen. Es ist also Fischer und Koske beizustimmen, daß sich Kresol ohne nennenswerten Verlust trocknen läßt.

Beim Trocknen von aus selbsthergestellten Kresolseifenlösungen durch Wasserdampfdestillation wiedergewonnenem Kresol ergaben sich folgende Werte (die Kresolseifenlösungen enthielten 10 g Kresol):

	Kresol-Seif. I	Differenz	Kresol-Seif. II	Differenz
Kolben + Kresol nach Abdestill. des Aethers	60,00 g		60,75 g	
„ „ „ 20 Min. Trocknen	57,94 „	2,06 g	58,34 „	2,41 g
„ „ „ 40 „ „	57,31 „	0,63 „	57,33 „	1,01 „
„ „ „ 60 „ „	56,96 „	0,35 „	56,89 „	0,44 „
„ „ „ 80 „ „	56,77 g	0,19 g	56,65 g	0,24 g
„ „ „ 100 „ „	56,66 „	0,11 „	56,50 „	0,15 „
Kolben leer	47,58 „		47,27 „	

Zu diesen Kresolseifenlösungen waren die schon vorher genannten Kresole verwandt. Aus den Tabellen resultiert, daß nach einem weiteren 20 Minuten langen Trocknen über 40 Minuten hinaus noch zu große Verluste auftreten, als daß man das Trocknen als genügend betrachten könnte. Auch ist nach 40 Minuten die Kresolmenge bei II noch zu groß.

Ich schlage deshalb ein Trocknen von 1 Stunde vor, nach welcher Zeit die Differenz nach weiterem 20 Minuten langen Trocknen nur gering ist.

Fischer und Koske ermittelten ca. 3 Proz. Verlust an Kresolen. Aus obigen Versuchen ergeben sich 3,8 bzw. 6,2 Proz. Verlust, was bei der Beurteilung der Ergebnisse aus der Destillation zu berücksichtigen ist.

Untersuchung von 16 Kresolseifenpräparaten.

Mit dieser Abändernng der Arzneibuchvorschrift, also einstündiges Trocknen des Kresols, vollzog ich nun die Untersuchung der mir vorliegenden Präparate. Es waren im ganzen 16. Die Präparate 1—5 waren Kresolseifenlösungen nach dem Deutschen Arzneibuche, V. Aufl.; Präparat 1 und 2 waren von Großfabriken als der Vorschrift entsprechend geliefert, Präparat 3 aus einer hiesigen Apotheke bezogen, 4 und 5 stellte ich selbst dar, das Kresol dazu war von 2 Fabriken nach Vorschrift des Deutschen Arzneibuches, V. Aufl., bezogen. Die Präparate 6—9 waren Kresolseifenlösungen nach dem Deutschen Arzneibuch IV. Aufl.; 6 war im

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Institut aufbewahrt worden, es stammte aus einer Apotheke, 7 wurde von einer Fabrik geliefert; 8 und 9 stellte ich selbst dar. Zu beiden verwandte ich dasselbe Kresol, das nach dem Deutschen Arzneibuch, IV. Aufl., von einer Fabrik geliefert war; zu 8 benutzte ich Sapo kalinus Deutsches Arzneibuch, IV. Aufl., die schon lange Zeit im Institute aufbewahrt und ganz eingetrocknet war, zu 9 eine als Sapo kalinus, V., aus einer Fabrik bezogene; 10, 11, 12 waren die bekannten Präparate Lysol, Betalysol und Bacillol, 13 eine technische Kresolseifenlösung zur Großdesinfektion, 14—16 Kreolin und 2 Ersatzpräparate.

Während bei den eigentlichen Kresolseifenpräparaten die Destillation sich ohne Schwierigkeiten vollzog, muß ich in bezug auf das Kreolin und seine Ersatzpräparate Schneider (8) beipflichten; die Destillation dauerte sehr lange, und die Flüssigkeitsmengen machten das Arbeiten umständlich.

Die Resultate sind in der Tabelle niedergelegt. Die 3 nach Vorschrift des Deutschen Arzneibuches V. Aufl. fertig bezogenen Kresolseifen hatten alle den geforderten Kresolgehalt, von den beiden alten Kresolseifenlösungen (IV. Aufl.) nur Präparat 7, während Präparat 6, wenn man den Verlust beim Trocknen in Betracht zieht, um 3,0 Proz. unter der Grenze blieb. Einen auffallend hohen Kresolgehalt zeigten Lysol und Bacillol.

Bei der sonstigen Prüfung der Präparate, deren Resultate in der Tabelle sich finden — Kreolin und seine Ersatzpräparate wurden nur zum Vergleich mituntersucht — befolgte ich die Vorschrift, wie sie im Deutschen Arzneibuch V. Aufl. für die Kresolseifenlösungen und für rohes Kresol gegeben ist. Dazu fügte ich noch die Untersuchung der Seife, für die sich in der Vorschrift keine Angabe findet; und zwar bestimmte ich das freie Alkali, den Fettsäuregehalt und untersuchte die Fettsäuren auf das Vorhandensein von Harz.

In bezug auf das spezifische Gewicht möchte ich bemerken, daß Raschig (69) die Bestimmung des Arzneibuches, wonach das spezifische Gewicht 1,038—1,061 betragen soll, anzweifelt; ihm war es unmöglich, nach der Vorschrift eine Kresolseifenlösung zusammenzusetzen, die das geforderte spezifische Gewicht hatte. Er hat nie weniger als 1,043 spezifisches Gewicht bei 15° ermittelt. Zur Klärung der Frage stellte ich mehrere Kresolseifenlösungen her und fand dabei ein spezifisches Gewicht von 1,028—1,035. Eine Kresolseifenlösung, die mit der Abweichung dargestellt war, daß zur Seife Leinöl und Harz zu gleichen Teilen verwandt wurde, hatte ein spezifisches Gewicht von 1,050. Schmatolla (67) weist darauf hin, daß, da das Kaliumhydroxyd einen Gehalt von 85 bis 100 Proz. KOH enthalten darf, die im Deutschen Arzneibuche angegebenen Grenzen für das spezifische Gewicht der Kresolseifenlösung zu eng gezogen sind.

Das freie Alkali bestimmte ich nach Schmatolla, indem ich 10 ccm Kresolseifenlösungen in einem Meßzylinder mit 15 ccm einer Mischung von 2 Teilen gesättigter Kochsalzlösung und 1 Teil Wasser bei 20—25° kräftig schüttelte, 10 ccm Aether zusetzte, wiederum kräftig schüttelte und dann die Kochsalzlösung sich absetzen ließ; bei den meisten Präparaten entstand beim Schütteln eine Emulsion, die auf Alkoholzusatz bald behoben war. Die Ausschüttelung mit Kochsalz erfolgte 2mal; in einer bestimmten Menge der vereinigten Ausschüttelungen wurde mittels einer $^1/_{10}$ n-Schwefelsäure bzw. Kalilauge mit Phenolphtalein als Indikator das freie Alkali bestimmt. Bei Präparat 2 war

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Gehalt zu hoch, ebenso hatten Präparat 3 und Bacillol verhältnismäßig viel freies Alkali.

Den Gehalt an Fettsäuren, die nach der Destillation im Kolben auf der sauerwässerigen Flüssigkeit schwimmen, bestimmte ich bei jedem Präparat nach zwei Methoden, einmal nach der Methode, wie sie das Deutsche Arzneibuch für Kaliseife angibt, wobei ich aber nicht ein Arzneiglas, sondern einen graduierten Zylinder benutzte, um die Bestimmung genauer zu gestalten, ferner nach der Wachsmethode; die beiden Werte stimmten meist überein, und in wenigen Fällen ergaben sich ganz geringe Differenzen, in der Tabelle habe ich hier den Mittelwert angegeben. Die Zahlen beziehen sich auf den Fettsäuregehalt in 100 g Kresolseifenlösung.

Die Prüfung auf Harzgehalt der Fettsäuren führte ich ebenso wie Thoms (25) nach der Storch-Morawskischen Reaktion aus, indem ich einige Tropfen der nach der Arzneibuchmethode isolierten Fettsäuren in wenig Essigsäureanhydrid löste und vorsichtig 1—2 Tropfen Schwefelsäure (1,53 spez. Gewicht) hinzufügte. Bei Präparat 3 und Betalysol deutete die auftretende blauviolette Färbung auf Harzzusatz.

Diese Fettsäurebestimmungen, die sich einfach und schnell durchführen lassen, halte ich für die Untersuchung der Kresolseifenlösung für ausreichend. Ein genaueres Verfahren gibt Hellriegel (53) an, dessen Arbeit mir erst nach dem Abschluß meiner chemischen Untersuchungen n die Hände kam.

Bestimmung des Gehaltes an m-Kresol.

Auf die Bestimmung des Gehaltes an m-Kresol muß ich noch etwas eingehen. Die Methode, wie sie das Arzneibuch angibt, geht auf Raschig (27) zurück; sie beruht darauf, daß o- und p-Kresol in der Siedehitze und bei Salpetersäureüberschuß vollständig zu Oxalsäure verbrennen, während m-Kresol in Trinitro-m-Kresol übergeführt wird. Nach Raschig schwanken die Resultate nicht über 1 Proz. nach oben und nach unten. Bei Kresolgemischen, die über 10 Proz. Phenol oder Xylenole enthalten, ist das Verfahren nicht ausführbar, da hierbei das Nitroprodukt bei 95—100° nicht fest bleibt. Russig und Fortmann (82) haben ein eigenes genaueres Verfahren ausgearbeitet, das auf dem Raschigschen beruht, doch es erfordert dabei die Ausführung sehr viel Zeit.

Nach Emde (28), Runne (83) und Eger (24) ist die Raschigsche Methode hinreichend genau, um für das Arzneibuch für die Bestimmung des m-Kresols im Rohkresol brauchbar zu sein. Fischer und Koske (18) beobachteten bei den meisten von ihnen untersuchten Rohkresolen ein Schmelzen des Nitroproduktes bei 99° und darunter, dabei enthielten die Präparate mindestens 88 Proz. zwischen 188—202° siedende Bestandteile. Auch Herzog (26), der im allgemeinen die Resultate nach der Methode als auffallend gut bezeichnet, hat ein Versagen derselben bei Handelssorten beobachtet, die zwischen 19° und 200° destillierten und größere Beimengungen von Phenolen und Xylenolen nicht enthalten konnten; er schließt daraus, daß auch andere von Raschig nicht angeführte Verunreinigungen die Methode unbrauchbar gestalten. Emde (28) beobachtete in einem Falle ein Zerfließen des Nitroproduktes bei 95°, was er auf den Karbolsäuregehalt des Kresols zurückführt. Eger (24) bezeichnet ebenfalls das Vorhandensein von Phenol als Ursache für das Zerfließen und betont, daß in dieser Be-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Laufende No.	Präparat	Farbe	Spezifisches Gewicht	Freies Alkali %	Lösung in: Glyzerin 1 : 10	Petroleumbenzin 1 : 10	Aqua dest. 3 %	Aqua font. 3 %	Weingeist 1 : 10	1-proz. NaCl-Lösg. 3 Tropfen zu 6 ccm	Destillation mit Wasserdampf: Destillat nach dem Trockn.	Rückstand	Bemerkungen
1	Liq. Cres. V a	braun, klar	1,029	0,07	klar	klar	hellgelb, klar	gelblich, opalisier., getrübt	klar	milchig getrübt	48,75	32,95 Fetts.	
2	„ „ V b	„	1,039	1,37	„	„	goldgelb, klar	gelbl., stark opalisier., getrübt	„	getrübt	51,25	27,70 „	
3	„ „ V c	dunkel-braun, klar	1,055	1,12	„	z. T. trübe, löslich, z. T. unlöslich	goldgelb, schwach getrübt	gelblich, trübe	etwas getrübt	opalisier., getrübt	47,85	22,10 „	in Fetts., Harz
4	„ „ V d	hellbraun, klar	1,028	0,07	„	klar	blaßgelb, klar	gelbl., schw. opalisier., getrübt	klar	milchig getrübt	46,90	32,20 „	
5	„ „ V e	rotbraun, klar	1,033	0,10	„	„	hellgelb, klar	„	„	stark getrübt	48,10	30,20 „	
6	„ „ IV a	schwarz-braun, in dünner Schicht klar	1,027	0,00	„	ganz schwach ge-trübt	hellgelb, schwach ge-trübt	bräunlich, stark getrübt, Bodensatz	„	opalisier., getrübt	43,80	18,80 „	
7	„ „ IV b	gelb-braun, klar	1,040	0,08	„	klar	blaßgelb, ganz schwach ge-trübt	gelblich, schwach opalisier., getrübt	„	stark getrübt	48,10	23,20 „	
8	„ „ IV c	rotbraun, klar	1,054	0,06	„	getrübt	reingelb, klar	gelblich, schw. opal., getrübt, geringer Bodensatz	„	„	47,50	33,60 „	
9	„ „ IV d	braun, klar	1,043	0,09	„	klar	blaßgelb, klar	gelblich, opalisier., getrübt	„	„	47,30	31,00 „	
10	Lysol	rotbraun, klar	1,035	0,03	„	schwach milchig ge-trübt	hellbraun, klar	gelblich, schwach opalisier., getrübt	„	schwach opalisier., getrübt	56,70	26,73 „	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

11	Betalysol	gelb-braun, klar	1,041	0,12	klar	klar	blaßgelb, schwach getrübt	schwach opalisier., getrübt	klar	schwach opalisier., getrübt	51,15	20,25	Fetts.	in Fetts. Harz
12	Bacillol	braun, trübe	1,042	1,27	schwach getrübt	schwach milchig getrübt	hellbraun, stark getrübt	hellbraun, stark getrübt	getrübt	„	56,20	19,74	„	
13	Liq. Cres. techn.	rotbraun, klar	1,054	0,76	klar	z.T. milchig, z. T. ungelöst	gelblich, stark getrübt	milchig getrübt, Bodensatz	schwach getrübt	stark getrübt	46,12	32,85	braunes Harz	
14	Kreolin	schwarz-braun, in dünner Schicht klar	1,044	0,07	z. T. milchig, z. T. ungelöst	z. T. ungelöst	stark milchig getrübt	stark milchig getrübt	klar	stark milchig getrübt	61,80	84,50	schwarze zähe Masse	
15	Kreolinersatz a	„	1,034	0,07	„	„	geringer Bodensatz	„ starker Bodensatz	trübe	„	61,67	35,00	dunkel-braunes Harz	Naphthalin im Destillationsrohr
16	„ b	„	1,066	0,51	z. großen Teil ungelöst	z. großen Teil ungelöst	„	„	klar	ganz stark getrübt	40,21	45,92	schwarze zähe Masse	„

Laufende No.	Destillat von Präparat	Farbe	Lösung in					Frakt. Destillation von 50 g			Lösung d. Hauptfraktion in 7½ % Natronlauge 1 : 10	m-Kresol-Gehalt %	Trinitro-m-Kresol		Karbolsäure-koeffizient	Bemerkungen
			Wasser 1 : 150	Weingeist 1 : 10	Aether 1 : 10	7½-proz. Natronlauge 10 : 100	Zusatz von HCl und NaCl scheiden aus	— 199°	— 204°	Rückstand			Farbe, Konsistenz	Schmelzpunkt		
1	Liq. Cres. V a	goldgelb	klar	klar	klar	schwach getrübt	9,0 ccm	4,10	42,50	3,0	klar	46,26	gelb kristallis.	104°	1,43	
2	„ „ V b	„	ganz schwach getrübt	„	„	trübe, viel Flocken	8,5 „	6,52	40,00	3,12	milchig getrübt	50,00	„	„	1,75	
3	„ „ V c	braun	„	„	„	„	7,0 „	38,00	9,38	2,38	„	36,38	hellbraun, harzig	unter 95°	1,67	
4	„ „ V d	dunkel-gelb	klar	„	„	schwach getrübt, Flocken	9,0 „	1,39	47,02	1,57	klar	50,00	gelb, kristallis.	104°	1,82	
5	„ „ V e	rotbraun	„	„	„	getrübt	9,5 „	34,33	12,68	2,50	„	38,56	braun, harzig	unter 95°	1,75	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 15:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Laufende No.	Destillat von Präparat	Farbe	Lösung in: Wasser 1 : 150	Lösung in: Weingeist 1 : 10	Lösung in: Aether 1 : 10	Lösung in: $7^1/_2$-proz. Natronlauge 10 : 100	Lösung in: Zusatz von HCl und NaCl scheiden aus	Frakt. Destillation von 50 g: — 199°	Frakt. Destillation von 50 g: — 204°	Frakt. Destillation von 50 g: Rückstand	Lösung d. Hauptfraktion in $7^1/_2$ % Natronlauge 1 : 10	m-Kresol-Gehalt %	Trinitro-m-Kresol: Farbe, Konsistenz	Trinitro-m-Kresol: Schmelzpunkt	Karbolsäure-koeffizient	Bemerkungen
6	Liq. Cres. IV a	braun	klar	klar	klar	schwach getr., etl. Flocken	8,5 ccm	35,03	12,60	1,85	schwach trübe	32,07	hellbraun, harzig	unter 95°	1,25	
7	„ „ IV b	„	„	„	„	fast klar, wenige Flocken	9,75 „	9,15	32,43	8,13	klar	32,18	braun, harzig	„	2,22	
8	„ „ IV c	rotbraun	„	„	„	schwach getrübt, etliche Flocken	9,5 „	3,06	44,40	2,54	„	32,53	gelb, kristallis.	102°	2,10	
9	„ „ IV d	„	„	„	„	„	9,5 „	„	„	„	„	„	„	„	2,10	
10	Lysol	goldgelb	„	„	„	schwach getrübt, keine Flocken	9,5 „	32,33	15,58	1,80	„	33,58	braun, harzig	unter 95°	2,00	
11	Betalysol	„	„	„	„	trübe, ganz wen. Flocken	9,5 „	38,27	9,10	2,31	opalisier., getrübt	29,25	„	„	1,58	
12	Bacillol	„	„	„	„	trübe, etliche Flocken	9,25 „	26,00	17,00	5,90	schwach opalisier., getrübt	25,12	hellbraun, harzig	„	1,58	
13	Liq. Cres. techn.	gelbbraun	„	„	„	getrübt, keine Flocken	9,25 „	9,57	32,97	7,09	klar	33,79	„	„	2,22	
								— 110°	— 204°	— 225°	Rückstand					
14	Kreolin	dunkelbraun, fluoresz.	z. T. ungelöst	„	„	6 ccm ungelöst	.	1,14	8,64	22,50	17,25	z. großen Teil ungelöst	.	.	.	1,82
15	Kreolinersatz a	dunkelbraun	„	„	„	6,5 ccm ungelöst	.	1,71	33,45	7,62	6,75	„	.	.	.	2,00
16	„ b	schwarzbraun, fluoreszierend	„	„	„	6,25 ccm ungelöst	.	2,01	11,30	13,20	23,00	„	.	.	.	1,05

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

ziehung die Höhe des Siedepunktes des Kresols keinen Anhalt gibt, was aus der Destillation eines Gemisches von 90 Proz. technischem Kresol und 10 Proz. Phenol hervorgeht, dessen untere Siedegrenze bei 198° lag. Raschig (84) selbst hebt dann auf Grund seiner 10-jährigen Erfahrung nochmals ausdrücklich hervor, daß nicht nur in den meisten Fällen, sondern immer durch Nitrierung nach seiner Methode der m-Kresolgehalt zuverlässig zu bestimmen ist.

Zur Ausführung des Verfahrens ist folgendes zu bemerken: Lehmann (52) macht darauf aufmerksam, daß die Salpetersäure in raschem Gusse zuzusetzen ist, da beim Zufügen derselben in kleinen Portionen oft explosionsartiges Hochspritzen des Nitriergemisches eintritt und das Arbeiten gefährdet. Ferner ist das Gemisch nach Zusatz der Salpetersäure nach Raschig (85, 27) so lange zu schütteln, bis eine homogene Mischung entstanden ist, ein „behutsames Umschwenken" genügt dazu nicht wegen der dick-sirupartigen Beschaffenheit der Kresolsulfosäure. Wegen der sich bildenden rotbraunen Dämpfe ist die Nitrierung im Abzug vorzunehmen. Im übrigen ist ein genaues Befolgen der Vorschrift erforderlich, da sonst die Resultate ungenau werden, denn das Trinitro-m-Kresol ist sowohl in der Salpeterschwefelsäure-Mutterlauge als auch im Waschwasser löslich, und es werden bei genauem Arbeiten beim Auswaschen ganz bestimmte und immer gleichmäßige Mengen des Nitroproduktes entfernt. Theoretisch müßte die aus 10 g Kresol gewonnene Menge Trinitro-m-Kresol mehr als 8,7 g betragen, da diese nur 38,7 Proz. m-Kresol entsprechen.

Bei meinen Untersuchungen beobachtete ich ebenso wie Lucas (51) bei den meisten Präparaten ein Schmelzen des Nitroproduktes unter 95° im Trockenschrank, ein genauer Schmelzpunkt ließ sich nicht ermitteln. Das Trinitro-m-Kresol enthielt also Verunreinigungen, und die angegebenen Zahlen geben nicht genau den m-Kresolgehalt an, doch lassen sie sich untereinander zum Vergleiche benutzen.

Ergebnis der chemischen Untersuchung.

Von den 5 Kresolseifenlösungen nach dem Deutschen Arzneibuche V. Aufl. erfüllte, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, keine ganz genau die Forderungen, die an sie gestellt werden. Präparat 4 kommt, abgesehen vom spezifischen Gewicht, der Vorschrift am nächsten, sodann die Präparate 1 und 2; Präparat 3 und 5 hatten zwar den geforderten Kresolgehalt, doch blieb die Beschaffenheit des Kresols weit hinter der Vorschrift zurück, Präparat 3 hatte nur 44,20 Proz. Fettsäuren in der Seife, die auch noch Harzzusatz aufwiesen.

Zu der Analyse der übrigen 9 Präparate habe ich nichts hinzuzufügen.

Schlußfolgerung.

Auf Grund der Erörterungen ist

a) die Fassung der Prüfungsvorschrift für Liquor Cresoli saponatus im Deutschen Arzneibuche V. Aufl. zu revidieren in bezug auf:

1) die Angabe über das spezifische Gewicht der Kresolseifenlösung,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) die Prüfung auf höher siedende Kohlenwasserstoffe und Harzseife,
3) das Trocknen des Kresols;

b) die Fassung über die Gehaltsbestimmung im Rohkresol abzuändern und zu ergänzen. („Umschütteln" nach Zusatz der Salpetersäure. „Vorsicht; Abzug!")

Bakteriologischer Teil.

Nachdem auf Grund einer hinreichend genauen Methode die wesentlichen Bestandteile der mir vorliegenden Präparate festgestellt waren, mußte es interessant sein, die Prüfung auf ihre bakterizide Wirksamkeit vorzunehmen. Als Prüfungsmethode gedachte ich zuerst das durch Laubenheimer (39) vereinfachte Krönig-Paulsche Granatenverfahren anzuwenden. Als ich mit den Vorarbeiten dazu beschäftigt war, veröffentlichte Schneider (8) die Ergebnisse seiner Untersuchungen über teerölhaltige Desinfektionsmittel nach der englischen Normalprüfungsmethode, dem Rideal-Walker Test (86), wonach unter Zuhilfenahme eines bestimmten Bakteriums als Testobjekt die Wirkung des Präparates im Verhältnis zu einem in dieselbe Reihe gehörigen (hier der Karbolsäure) berechnet wird.

Schneider zeigt an einer Reihe von Untersuchungen mit 6 verschiedenen Testbakterien, daß der Karbolsäurekoeffizient je nach der Wahl der Testbakterien ganz verschieden ausfällt und sich in weitesten Grenzen bewegt. Daher ist es nicht zulässig, den Typhusbacillus, der den höchsten Koeffizienten liefert, für diese einheitliche Prüfungsmethode als Testobjekt zu wählen, wie es die Methode angab. Das von der Lancet-Commission (87) vorgeschlagene Bact. coli wäre schon eher geeignet dazu.

Die Untersuchungen Schneiders erbrachten den Beweis dafür, daß einerseits das Standardmittel Phenol auf die Entwickelung der Testbakterien bei der Prüfung der Desinfektionswirkung nur sehr geringen Einfluß ausübt, während andererseits der entwickelungshemmende Einfluß der teerölhaltigen Desinfektionsmittel, mit Ausnahme bei einem Bakterium, ziemlich erheblich ist. Dieser eine Erreger, der Bac. pyocyaneus, nimmt in seinem Verhalten eine merkwürdige Sonderstellung ein. Seine Entwickelung wurde unter den angewandten Versuchsbedingungen durch die geprüften teerölhaltigen Desinfektionsmittel nicht nur fast gar nicht gehemmt, sondern der Grad der Hemmung war noch geringer als bei dem Standardmittel der reinen Karbolsäure.

In Uebereinstimmung damit lieferte der Bac. pyocyaneus von allen Testbakterien die niedrigsten Karbolsäurekoeffizienten, die demnach als wahre Desinfektionswerte von praktischer Bedeutung anzusehen sind.

Auf Grund seiner Feststellungen schlug Schneider für phenolteerölhaltige wie auch für phenolhaltige Präparate eine einheitliche Kontrollmethode mit Bac. pyocyaneus als Testobjekt und Karbolsäure als Einheit vor.

Eigene bakteriologische Untersuchungen.

Ich verfuhr bei meinen Untersuchungen genau nach der Schneiderschen Methode; daß dabei aufs peinlichste auf Sterilität geachtet wurde, brauche ich nicht hervorzuheben. Der Pyocyaneus-Stamm wurde

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mir vom Hygienischen Institut der Tierärztlichen Hochschule bereitwilligst zur Verfügung gestellt. Die Nährböden bereitete ich mir im Institut für Nahrungsmittelkunde. Dabei benutzte ich aus frischem Rindfleisch hergestelltes Fleischwasser. Die Nährböden wurden vor der Verwendung stets an Proben geprüft; von den mir vorliegenden Präparaten, sowie von Phenol (Phenol synthetisch Kahlbaum) stellte ich mir 5-proz. Stammlösungen her, die weiteren Verdünnungen bereitete ich durch Abwiegen.

Versuche über Entwickelungshemmung.

Zur Feststellung der entwickelungshemmenden Eigenschaften verfuhr ich, wie folgt: ich stellte mir Verdünnungen der Desinfektionsmittel von 1:250 bis 1:2000 mit Bouillon (10 ccm) her, die Bouillonröhrchen wurden mit einem Tropfen 24-stündiger Bouillonkultur beschickt, bei 37° im Brutschrank gehalten und nach 24 und 48 Stunden die Resultate aufgezeichnet. Eingetretenes Wachstum war stets, trotz der Trübung mancher Röhrchen, an der Kahmhaut sowie der Grünfärbung der Bouillon direkt unterhalb der Kahmhaut zu erkennen. Die Resultate bestätigten, ebenso wie die gleichzeitig mit mir von Weber (88) über Phobrol „Roche" (eine Lösung von 50 Proz. Chlor-m-Kresol in ricinolsaurem Kali) ermittelten, die erwähnten Ergebnisse von Schneider.

I.

Konzentr.	Phenol	Liq. V. b	Liq. IV. b	Lysol	Betalys.	Bacillol	Liq. techn.	Kreolin
1:250	—	—	—	—	—	—	—	+
1:500	—	+	—	—	+	+	+	+
1:1000	+	+	+	+	+	+	+	+
1:2000	+	+	+	+	+	+	+	+
1:3000	+	+	+	+	+	+	+	+
1:5000	+	+	+	+	+	+	+	+
1:10000	+	+	+	+	+	+	+	+
1:20000	+	+	+	+	+	+	+	+

II.

Konzentr.	Phenol	Liq. V. f	Liq. V. g	Liq. V. b	Betalys.	Bacillol	Liq. techn.	Kreolin
1:250	—	—	—	—	—	—	—	+
1:500	—	+	+	+	+	+	+	+
1:1000	+	+	+	+	+	+	+	+
1:2000	+	+	+	+	+	+	+	+
1:3000	+	+	+	+	+	+	+	+
1:5000	+	+	+	+	+	+	+	+
1:10000	+	+	+	+	+	+	+	+
1:20000	+	+	+	+	+	+	+	+

Versuche über Bakterienabtötung.

Zur Feststellung des Karbolsäurekoeffizienten bereitete ich mir erst eine Bouillonkultur, indem ich von einem 24-stündigen Agarrasen von Bac. pyocyaneus eine Normalöse in 10 ccm Bouillon verteilte und das Röhrchen bei 37° im Brutschrank hielt, worauf ich die Bouillonkultur durch feine Glaswolle in ein Viginta-Normaltropfglas filtrierte. 5 Tropfen dieser Bouillonkultur wurden dann zur Desinfektionsmittellösung (10 ccm) gegeben, die sich in kleinen bedeckten Schälchen von 20 ccm Inhalt befand, und mit einer Platinöse verrührt. Nach den aus den Tabellen ersichtlichen Zeiten wurde aus den Schälchen der Inhalt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Präparat	Konzentr.	Einwirkungsdauer					Koeff.
		3 Min.	6 Min.	9 Min.	12 Min.	15 Min.	
Phenol	1:90	—	—	—	—	—	
	1:100	+	—	—	—	—	
	1:110	+	+	+	—	—	
Lysol	1:150	—	—	—	—	—	1,90
	1:175	—	—	—	—	—	
	1:200	+	+	—	—	—	
Betalysol	1:125	—	—	—	—	—	1,52
	1:150	+	+	—	—	—	(1,48)
	1:175	+	+	+	+	—	
Liq. IV. b	1:200	+	—	—	—	—	2,17
	1:225	+	+	+	—	—	(2,07)
	1:250	+	+	+	+	—	
Liq. techn.	1:200	+	+	—	—	—	1,96
	1:225	+	+	+	+	—	(1,93)
	1:250	+	+	+	+	+	
Liq. V. d	1:150	—	—	—	—	—	1,82
	1:175	+	—	—	—	—	(1,78)
	1:200	+	+	+	—	—	
Kresol löslich	1:300	—	—	—	—	—	3,33
	1:325	+	—	—	—	—	(3,29)
	1:350	+	+	—	—	—	
Kreolin Ersatz a	1:175	+	—	—	—	—	1,90
	1:200	+	+	—	—	—	(1,83)
	1:225	+	+	+	+	+	
Kreolin	1:150	—	—	—	—	—	1,82
	1:175	+	+	—	—	—	(1,75)
	1:200	+	+	+	—	—	
Phenol	1:90	+	—	—	—	—	
	1:100	+	+	+	—	—	
	1:110	+	+	+	+	+	
Liq. IV. a	1:125	+	+	+	—	—	1,25
	1:150	+	+	+	+	+	
	1:175	+	+	+	+	+	
Liq. IV. b	1:150	—	—	—	—	—	2,22
	1:175	—	—	—	—	—	
	1:200	+	—	—	—	—	
Liq. IV. c	1:150	—	—	—	—	—	2,10
	1:175	+	—	—	—	—	(2,02)
	1:200	+	+	—	—	—	
Liq. IV. d	1:150	—	—	—	—	—	2,10
	1:175	—	—	—	—	—	
	1:200	+	+	—	—	—	
Liq. techn.	1:150	—	—	—	—	—	2,22
	1:175	—	—	—	—	—	
	1:200	+	—	—	—	—	
Kresol löslich	1:275	—	—	—	—	—	3,42
	1:300	+	—	—	—	—	(3,38)
	1:325	+	+	—	—	—	
Kreolin Ersatz a	1:150	—	—	—	—	—	2,00
	1:175	—	—	—	—	—	
	1:200	+	+	+	—	—	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Präparat	Konzentr.	Einwirkungsdauer					Koeff.
		3 Min.	6 Min.	9 Min.	12 Min.	15 Min.	
Kreolin Ersatz b	1:100	+	+	—	—	—	1,05
	1:125	+	+	+	+	+	
	1:150	+	+	+	+	+	
Phenol	1:95	+	+	—	—	—	
	1:100	+	+	+	—	—	
	1:105	+	+	+	+	+	
Liq. V. f	1:150	+	—	—	—	—	1,90
	1:175	+	+	+	—	—	(1,77)
	1:200	+	+	+	+	—	
Liq. V. b	1:150	+	+	—	—	—	1,75
	1:175	+	+	+	—	—	(1,67)
	1:200	+	+	+	+	+	
Liq. V. c	1:150	+	+	—	—	—	1,67
	1:175	+	+	+	+	—	(1,63)
	1:200	+	+	+	+	+	
Lysol	1:150	+	—	—	—	—	2,00
	1:175	+	+	—	—	—	(1,84)
	1:200	+	+	+	—	—	
Betalysol	1:150	+	+	—	—	—	1,58
	1:175	+	+	+	+	+	
	1:200	+	+	+	+	+	
Bacillol	1:125	—	—	—	—	—	1,58
	1:150	+	+	—	—	—	
	1:175	+	+	+	+	+	
Kreolin	1:150	+	+	—	—	—	1,75
	1:175	+	+	+	—	—	(1,67)
	1:200	+	+	+	+	+	
Phenol	1:90	—	—	—	—	—	
	1:100	+	—	—	—	—	
	1:110	+	+	+	—	—	
Liq. V. g	1:150	—	—	—	—	—	1,74
	1:175	+	+	—	—	—	(1,70)
	1:200	+	+	+	+	—	
Kresolseife für Hebammen	1:150	+	+	—	—	—	1,43
	1:175	+	+	+	+	+	
	1:200	+	+	+	+	+	
Liq. V. a	1:150	+	+	—	—	—	1,43
	1:175	+	+	+	+	+	
	1:200	+	+	+	+	+	
Phenol	1:90	—	—	—	—	—	
	1:100	+	+	—	—	—	
	1:110	+	+	+	+	—	
Liq. V. d	1:150	+	+	—	—	—	1,82
	1:175	+	+	+	—	—	(1,67)
	1:200	+	+	+	+	—	
Liq. V. e	1:150	+	—	—	—	—	1,75
	1:175	+	+	—	—	—	(1,67)
	1:200	+	+	+	+	+	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einer Platinöse von ca. 3 mm Durchmesser in 10 ccm Bouillon verteilt, die Röhrchen nach 48-stündigem Verweilen im Brutschrank untersucht und die Resultate noch weitere 2 Tage kontrolliert.

Die Resultate sind in den folgenden Tabellen niedergelegt. Die Berechnung des Karbolsäurekoeffizienten ist daraus leicht ersichtlich. Oefters ergaben sich zwei Werte. Ich habe dann den höchsten angegeben und den Mittelwert in Klammern beigefügt und außerdem, wie aus den Tabellen hervorgeht, durch nochmalige Prüfung die Zahlen kontrolliert.

Von einigen Präparaten ist die chemische Analyse in der Tabelle nicht angegeben (Liquor Cresoli V. f, Liquor Cresoli V. g, Hebammenkresolseifenlösung); ich hatte mir die Präparate selbst dargestellt.

Das als „Kresol löslich" bezeichnete Präparat hatte ich nach Hillers (89) Angaben bereitet. Er bezeichnete als einfaches Verfahren, die Kresole leicht wasserlöslich zu machen, den Zusatz von Spiritus. Ein Verhältnis von 1 Teil Trikresol Schering und 4 Teilen Spiritus (95-proz.) ist nach ihm das günstigste, um die Kresole in jedem Verhältnis mit Wasser mischbar zu machen. Für das rohe Kresol empfahl er eine Mischung von 10 ccm Cresolum crudum mit 60 ccm Brennspiritus. Ich stellte mir darnach unter Zusatz von Weingeist Lösungen von $^1/_4$—5 Proz. Gehalt an Kresol dar und verglich sie mit rein wässerigen Lösungen. Es zeigte sich dabei, daß durch den Weingeistzusatz die Löslichkeit von Cresolum crudum nur geringgradig erhöht wird, was praktisch nicht in Betracht kommt. Auch in bezug auf die Desinfektionskraft zeigte das Präparat gegenüber der entsprechenden Kresolseifenlösung (Liquor Cresoli V. d), die ja nur zur Hälfte aus Kresol bestand, keine Vorteile.

Zur besseren Uebersicht, und um Vergleiche anzustellen, habe ich die Karbolsäurekoeffizienten in der Tabelle mitbeigefügt.

Bemerken möchte ich noch, daß die Versuche bei einer Temperatur von 20—25° ausgeführt wurden.

Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung.

1) Von den Kresolseifenlösungen nach D. A.-B. V. erwies sich auch hierbei Präparat 4 als das beste, doch blieben die anderen nicht weit hinter ihm zurück; sogar das den Anforderungen des Arzneibuches gar nicht entsprechende Präparat 3 erwies sich noch als gut. Auffallend ist der geringe Wert von Präparat 1; wieder ein Beweis dafür, daß die chemische Analyse zur Beurteilung der Güte einer Kresolseifenlösung nicht ausreicht (Pyocyaneus-Karbolsäurekoeffizient des Liquor Cresoli V. nach Schneider = 1,5).

2) Die Kresolseifenlösungen nach dem D. A.-B. IV. hatten mit einer Ausnahme einen auffallend hohen Koeffizienten; bei Präparat 6 ist die geringere Wirkung wohl auf den geringeren Kresolgehalt zurückzuführen.

3) Das Lysol erwies sich auch bei dieser Prüfung als gut, ungefähr gleich den Kresolseifenlösungen nach D. A.-B. IV., besser als die nach D. A.-B. V. Betalysol und Bacillol, die sich beide gleich verhielten, blieben hinter ihm zurück, sie sind auch billige und brauchbare Präparate.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

4) Die technische Kresolseifenlösung, die fast die gleiche Zusammensetzung hatte wie Liquor Cresoli IV. b, auch von derselben Fabrik stammte, aber anstatt der Fettsäuren ein braunes Harz enthielt, zeigte einen gleich guten Wirkungswert. Von einer Minderwertigkeit solcher Präparate kann also, wie viele Autoren annehmen, nicht gesprochen werden.

5) Kreolin ist als gut zu bezeichnen. Von seinen Ersatzpräparaten war eines besser auf Grund seines höheren Gehaltes an Kresolen, das andere, was schon aus der Analyse hervorging, auffallend schlecht.

Aus den Ergebnissen ist eine Ueberlegenheit des Liquor Cresoli D. A.-B. V. gegenüber dem früher offizinellen Präparate sowie gegenüber dem Lysol nicht zu entnehmen, und ich muß mich dem Urteile von Schneider, Seligmann und Rapp anschließen, daß die neue Herstellungsvorschrift keine Verbesserung der Kresolseifenlösung gebracht hat, vielmehr ist es empfehlenswert, auch wegen des billigeren Preises, zu der früher offizinellen Kresolseifenlösung zurückzukehren.

Zum Schlusse spreche ich meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geh. Regierungsrat Prof. Dr. Regenbogen, dem ich die Anregung zu dieser Arbeit verdanke, für sein stets reges Interesse, seine freundliche Belehrung und Unterstützung meinen herzlichsten Dank aus.

Literatur.

1) Koch, Robert, Ueber Desinfektion. (Mitteil. a. d. Kais. Gesundh.-Amt. Bd. 1. 1881. p. 234.)
2) Fröhner, E., Ueber das Kreolin. (Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. 13. 1887, p. 341.)
—, Intern. klin. Rundsch. 1888. No. 20.
3) Biel, Chemiker-Ztg. 1887. p. 1583.
4) Fischer, Pharm.-Ztg. 1887. No. 103; 1888. No. 48.
5) Lutze, Pharm.-Ztg. 1888. No. 14.
6) Henle, Ueber Kreolin und seine wirksamen Bestandteile. (Arch. f. Hyg. Bd. 9. 1889.)
7) Kochs, Apoth.-Ztg. 1906. p. 822.
8) Schneider, Chem. und bakt. Untersuchungen über teerölhaltige Desinfektionsmittel mit Vorschlägen für eine neue einheitliche bakt. Prüfungsmethode. Desinfektion. (Monatsschr. f. Desinfekt., Sterilisat. etc. 1912. H. 5.)
9) Hueppe, Das Aseptol. (Berlin. klin. Wochenschr. 1886. No. 37.)
10) Laplace, Rohe Karbolschwefelsäure als Desinfektionsmittel. (Deutsche med. Wochenschr. 1887. No. 40; 1888. No. 7.)
11) Fränkel, Die desinfizierenden Eigenschaften der Kresole. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889. p. 521.)
12) Delplanque, Bull. thérap. Report der Chem.-Ztg. 1888. No. 325.
13) Schneider, Pharm. Zentralhalle. 1889. No. 34.
14) Nocht, Ueber die Verwendung von Karbolseifenlösungen zu Desinfektionszwecken. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7. p. 530.)
15) Behring, Ueber Desinfektion, Desinfektionsmittel und Desinfektionsmethoden. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 9. p. 395.)
16) Schottelius, Vergleichende Untersuchungen über die desinfizierende Wirkung einiger Teerprodukte. (München. med. Wochenschr. 1890. No. 20.)
17) Raupenstrauch, Das Lysol, seine Darstellung, Eigenschaften und Prüfung. (Arch. d. Pharm. 1891. p. 197.)
18) Fischer u. Koske, Untersuchungen über die sog. „rohe Karbolsäure" mit besonderer Berücksichtigung ihrer Verwendung zur Desinfektion von Eisenbahntransportwagen. (Arb. a. d. Kais. Gesundh.-Amt. Bd. 19. 1903. p. 577.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

19) Fehrs, Ueber die Desinfektionskraft verschiedener Handelsmarken von Liquor Cres. sap. des D. A.-B. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 37. p. 730.)
20) Uebelmesser, Die Desinfektionskraft des käuflichen Liq. Cres. sap. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 37. p. 469.)
21) Arnold u. Werner, Zur Lysolanalyse. (Apoth.-Ztg. 1904. p. 590.)
22) Schneider, Ein Beitrag zur Kenntnis der Phenole in Verbindung mit Säuren und Gemischen mit Seifen von chem. und bakt. Standpunkte. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 53. 1906. p. 116.)
23) Deiter, Ueber Untersuchungen von Kresolseifenlösungen. (Veröff. a. d. Geb. d. Milit.-San.-Wes. H. 38 u. 41.)
24) Eger, Kresol und Kresolseife. (Pharm.-Ztg. 1907. p. 1049.)
25) Thoms, Ueber die Zusammensetzung des Lysols.
— u. Walter, Darstellung von Kresolseifenlösungen, die dem Lysol ähnlich zusammengesetzt sind. (Arb. a. d. Pharm. Inst. d. Univ. Berlin. Bd. 2. 1905. p. 379.)
26) Herzog, Vorschlag betr. die Aufnahme eines neuen Cresolum crudum in den D. A.-B. (Apoth.-Ztg. 1907. p. 77.)
27) Raschig, Verfahren, um Kresol in Kresolgemischen zu bestimmen. (Zeitschr. f. angew. Chem. 1900. p. 759.)
28) Emde, Zur Kenntnis der Kresole des Handels. (Apoth.-Ztg. 1907. p. 5, 104.)
29) Hammer, Ueber die Desinfektionskraft des Kresols etc. (Arch. f. Hyg. 1891. p. 360.)
30) Rapp, Die Desinfektionskraft der 3 isomeren Kresole. (Apoth.-Ztg. 1907. p. 643.)
31) Schneider, Ueber den Desinfektionswert der 3 Kresolisomeren in Gemischen mit Seife. (Arch. f. Hyg. 1908. p. 1.)
32) Hammerl, Ueber die bakt. Fähigkeit und Giftigkeit der 3 isomeren Kresole und des Phenols. (Hyg. Rundsch. 1899. p. 1017.)
33) Seybold, Ueber die desinfizierende Wirkung von m-Kresol Hauff etc. (Zeitschr. f. Hyg. 1898. p. 377.)
34) v. Wunschheim, Arch. f. Hyg. Bd. 39. p. 101.
35) Thomann, Beitrag zur Kenntnis des Desinfektionswertes der 3 Kresolisomeren in Gemischen mit Seife. (Schweiz. Wochenschr. f. Chem. u. Pharm. 1908. p. 695.)
36) Seligmann, Ueber den Desinfektionswert der neuen Kresolseife des Min.-Erl. vom 19. Okt. 1907. (Berlin. klin. Wochenschr. 1908. p. 778.)
37) Arnold, Die Beschaffenheit der für Hebammen bestimmten Kresolseifen unter dem Einfluß des Min.-Erl. vom 19. Okt. 1908 und des D. A.-B. V. (Desinfekt. 1912. H. 2.)
38) Rapp, Ein Beitrag zum Kapitel Kresolseife und Kresolseifenlösung. (Apoth.-Ztg. 1908. p. 737.)
—, Prüfung von Kresolseifenlösungen. (Apoth.-Ztg. 1909. p. 611, 641.)
—, Ueber Kresole und Kresolseifenlösungen. (Desinfekt. 1909. H. 11.)
39) Laubenheimer, Phenole und seine Derivate als Desinfektionsmittel. [Habilitationsschr.] Gießen 1909.
40) Meili, Inaug.-Diss. 1891.
41) Schütz, Vergleichende Untersuchungen über einige Kresolpräparate mit besonderer Berücksichtigung des m-Kresols. (Hyg. Rundsch. 1896. p. 289.)
42) Tollens, Giftigkeit des Kresols. (Chem. Ztg. 1905. Repert. 77.)
43) Aronson, Berlin. klin. Wochenschr. 1894. No. 19.
44) Hammerl, Arch. f. Hyg. 1894. p. 21.
45) Grigorjeff, Beitr. z. path. Anat. u. z. allg. Path. Bd. 16.
46) Gerlach, Zeitschr. f. Hyg. 1891. p. 389.
47) Remonchamps et Sugg, Mouv. hyg. Bruxelles 1890.
48) Schneider, Vergleichende Desinfektionsversuche zwischen Lysol und der neuen Kresolseife des Preuß. Min.-Erl. vom 19. Okt. 1907. (Zeitschr. f. Med.-Beamte. 1908. p. 53.)
49) Schottelius, Lysol und Kresolseife. (München. med. Wochenschr. 1908. p. 281.)
50) Ahlfeld, ebenda. p. 570.
51) Lucas, Apoth.-Ztg. 1912. p. 963.
52) Lehmann, Zur Prüfung von Cres. crud. (Apoth.-Ztg. 1913. p. 62.)
53) Hellriegel, Ueber die Untersuchung von Liq. Cres. sap. V. (Apoth.-Ztg. 1912. p. 91.)
54) Nijland, Arch. f. Hyg. Bd. 18. 1893. p. 335.
55) Kampe, Studien über die Wirkung einiger Desinfizientien. Würzburg 1898/99.
56) Reithoffer, Arch. f. Hyg. 1896. p. 350.
57) Jolles, Zeitschr. f. Hyg. 1893. p. 460.
58) Maaz, Dissert. Erlangen 1898.
59) Heller, Arch. f. Hyg. Bd. 47. 1903. p. 213.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

60) Rasp, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 58. 1908. p. 45.
61) Heider, Arch. f. Hyg. 1892. p. 341.
62) Ditz u. Clauser, Chem.-Ztg. 1898. p. 732.
63) The standardisation of disinfectants. A chemical and bacteriological inquiry. (The Lancet. 1909. Vol. 2. p. 1454.)
64) Rideal, The standardisation of disinfectants. (The Lancet. 1909. Vol. 2. No. 25. p. 1849.)
65) Clessler, Süddeutsche Apoth.-Ztg. 1904. No. 12 u. 14.)
66) Arnold u. Werner, Apoth.-Ztg. 1904. p. 907.
67) Schmatolla, Pharm. Ztg. 1902. No. 99; 1903. No. 28, 43, 56; 1905. No. 15; 1908. No. 93; 1913. No. 676. — Chem.-Ztg. 1903. No. 50; 1909. No. 31. — Apoth.-Ztg. 1904. No. 82.
68) Arnold u. Mentzel, Apoth.-Ztg. 1903. No. 16.
69) Raschig, Pharm. Ztg. 1911. p. 180.
70) Schwarz, Süddeutsche Apoth.-Ztg. 1911. No. 99.
71) Wolter, Pharm. Ztg. 1912. No. 37.
72) Serger, Apoth.-Ztg. 1911. No. 37.
73) Keller, Apoth.-Ztg. 1909. p. 849.
74) Blomquist, Chem.-Ztg. Repert. 1895. p. 190.
75) Chem.-Ztg. 1907. p. 1028.
76) Utz, Süddeutsche Apoth.-Ztg. 1903. No. 44.
77) Warnecke, Apoth.-Ztg. 1909. p. 650.
78) Aufrecht, Pharm. Ztg. 1905. p. 538.
79) Fresenius u. Makin, Zeitschr. f. anal. Chem. 1896. p. 325.
80) Spalteholz, Chem.-Ztg. 1898. p. 58.
81) Lunge, Chem.-techn. Untersuch.-Meth. 4. Aufl. 1900.
82) Russig u. Fortmann, Zeitschr. f. angew. Chem. 1901. p. 157.
83) Emde u. Runne, Arch. d. Pharm. 1908.
84) Raschig, Pharm.-Ztg. 1908. p. 99.
85) —, ebenda. 1910. p. 1056.
86) Rideal, Ber. üb. d. 4. internat. Kongr. f. Hyg. etc. Bd. 2. p. 979.
87) The standardisation of disinfectants etc. (The Lancet. 1909. Vol. 2. p. 1516.)
88) Weber, Phobrol „Roche". [Dissert.] Berlin 1913.
89) Hiller, Desinfekt. 1911. H. 4. p. 227.

Nachdruck verboten.

La méthode de Casares-Gil pour la coloration des cils des bactéries.

[Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Note de **B. Galli-Valerio.**

La coloration des cils des bactéries est de la plus grande importance pour l'étude de la morphologie et pour la classification de plusieurs espèces bactériennes. Bien de bactériologistes se sont préoccupés de trouver un procédé simple, sûr et utilisant des réactifs qui peuvent se garder longtemps. Dans une thèse faite à mon institut, Simonin[1]) est arrivé à la conclusion que de ces différents procédés simples, les seules qui peuvent être utilement employés, sont ceux de Valenti, de Benignetti e Gino, de De' Rossi et de Harrison.

Mon expérience de nombreuses années, tout en m'ayant démontré que ces méthodes sont, parmi les méthodes simples, celles qui donnent en effet les meilleurs résultats, m'a aussi démontré qu'il faut presque toujours faire un nombre assez grand de préparations, pour en obtenir quelques-unes de bonnes. En outre toutes présentent l'inconvénient de

1) Thèse de Lausanne. 1907.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

réclamer le chauffage de la préparation, chose qui donne souvent des précipités, ou bien une coloration prolongée au moins pendant une heure.

Je dois à l'obligeance du Dr. Casares-Gil la connaissance d'une méthode dont il a eu l'idée, méthode qu'il a publiée il y a deux ans dans la Revista de Sanidad militar, mais qui a passé malheureusement complètement inobservée. Voici suivant les indications que le Dr. Casares-Gil, médecin major de l'armée espagnole, a bien voulu me fournir, la technique pour la préparation des réactifs et pour la coloration.

a) Solution mère.

Dans 30 c. c. d'alcool à 70°, on dissout soigneusement dans un mortier: 10 g de tannin et 18 g de chlorure d'alluminium hydraté.

On ajoute alors goutte à goutte une solution de 10 g de chlorure de zinc dans 10 g d'eau et $1^1/_2$ g de chlorhydrate de rosaniline.

Cette solution mère est placée dans un flacon, sans la filtrer.

b) Pour colorer les préparations, faites sur lame ou lamelle, on mélange rapidement, d'un seul coup, dans une éprouvette 1 partie de solution mère avec 4 parties d'eau distillée, on agite, on laisse reposer une minute et on filtre. Alors on couvre la préparation avec quelques gouttes de la solution colorante filtrée ou, mieux encore, avec les gouttes qui coulent du filtre et on laisse colorer jusqu'à formation d'une mince couche à reflet métallique (à peu près une minute). On lave alors rapidement avec beaucoup d'eau pour éviter la formation de précipités. Les cils sont alors colorés et on peut colorer immédiatement les bactéries avec de la fuchsine phéniquée ordinaire ou du bleu de méthylène, en une ou deux minutes.

J'ai expérimenté cette méthode à mon institut, en préparant des dilutions dans l'eau stérile de cultures bactériennes de 24 h. sur agar, les étendant sur des porte objets très propres, laissant sécher à l'air et colorant de la façon sus indiquée. Les résultats ont été excellents, non seulement dans mes mains, mais dans celles de mon assistante et de mes élèves. On peut dire que toutes les préparations réussissent d'emblée, même dans les mains de personnes qui n'ont jamais coloré de cils des bactéries. Les expériences ont été faites avec V. cholerae, B. typhi, B. proteus, B. pyocyaneum et B. subtilis. J'ai même pu colorer des préparations de B, typhi séchées à la flamme et dans un cas, une culture mixte de Bac. tetani et Bac. oedematis maligni en bouillon de Tarozzi.

Le procédé le plus sûr pour ne pas avoir de précipités, est celui de laver la préparation sous un robinet largement ouvert.

La solution mère se garde-t-elle longtemps? Je le suppose, à condition de la garder dans l'obscurité. Celle que j'utilise et qui est toujours très bonne, date d'environ d'un mois et demi[1]).

Mes recherches confirment donc complètement celles de Casares-Gil et la méthode de coloration des cils des bactéries dont cet observateur a eu l'idée, est une méthode très simple, très pratique et donnant d'excellents résultats.

Lausanne, 4 juillet 1914.

1) Au moment de corriger les épreuves (12. avril 1915) la solution est encore bonne.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Die Untersuchung im künstlichen Dunkelfeld.

[Aus der Infektionsabteilung des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Barmbeck (Direktor: Prof. Dr. Th. Rumpel).]

Von **A. V. Knack.**

In folgendem möchte ich eine Methode zur Untersuchung mikroskopischer Objekte mitteilen, die sich mir bei subtilen Arbeiten anfänglich hämatologischer, dann aber auch bakteriologischer und protozoologischer Art bewährt hat.

Der Dunkelfeldbeleuchtung, die gerade in letzter Zeit durch die Einführung von Zeiß-Immersionsobjektiv W und der Mikroskopierbogenlampe außerordentlich verbessert wurde, haften zwei Fehler an: Einmal erhält man von undurchsichtigen Objekten nur Konturbilder, so erscheinen Kokken als zarte Kreise, Bakterien als doppeltlinierte, feine Fäden, sodann geht die Eigenfarbe, die zur Differenzierung der Objekte oft unendlich wertvoll ist, verloren. Die Bedeutung der Dunkelfeldbeleuchtung liegt darin, daß sie bei entsprechend starken Lichtquellen die Anwesenheit der minimalsten Objekte zu enthüllen vermag; zu exakten morphologischen Untersuchungen wird man aber immer wieder auf die Betrachtung im Hellfeld angewiesen sein. Hier aber stößt man im Gegensatz zum Dunkelfelde auf die Schwierigkeit, daß es selbst bei Verwendung apochromatischer Systeme trotz guter Beleuchtung und entsprechender Abblendung oft nicht gelingt, feinste Gebilde, z. B. Blutstäubchen und Blutfäden, ungefärbt zur Darstellung zu bringen.

Bei meinen hämatologischen Untersuchungen kam ich nun zu einer Methode, die es mir ermöglichte, im Hellfeld im vitalen Präparat die gleichen feinsten Körperchen aufzufinden, die das Dunkelfeld gerade in Blut u. dgl. in großer Masse erkennen läßt.

Das Prinzip der Methode ist das gleiche wie beim Burrischen Tuscheverfahren: Die Objekte erscheinen als ungefärbte Körper, ausgespart in einem dunklen Medium.

Da zur Vitaldarstellung die chinesische Tusche nicht zu gebrauchen ist, weil sie ebenso wie die von Nitsche als Modifikation des Burri-Verfahrens angegebene Collargollösung aus einer Aufschwemmung feinster schwarzer Körnchen besteht, die in molekularer Bewegung das Gesichtsfeld erfüllen und eine Sichtbarmachung anderer Objekte außerordentlich erschweren, versuchte ich mit verschiedenen schwarzen Anilinfarbstoffen: Nigrosin B, Indulin, Säureschwarz, Wollschwarz etc. zum Ziele zu gelangen und fand als besonders geeignet das Nigrosin B (Grübler) „wasserlöslich".

Die Herstellung der Farblösung geschieht nach folgendem Schema:

1) In einer Schottmüller-Flasche wird eine reichliche Menge obigen Farbstoffes mit steriler physiologischer Kochsalzlösung versetzt (ca. 5 g auf 30 ccm), 10 Minuten lang durchgeschüttelt. Ein Ueberschuß von Farbstoff ist zur Erlangung einer gesättigten Lösung zu empfehlen.

2) Die so angesetzte Farblösung wird auf 3 Tage im gleichen Gefäß in den Brutschrank (37°) gestellt,

3) dann, ohne wieder aufzuschütteln, durch Asbest filtriert. Die Filtration geschieht in der Weise, daß man die gut gestopften Filter

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zunächst mit Aether, dann mit Alkohol und darauf mit destilliertem Wasser durchsaugt und die Filtration der Farblösung gegen ein Vakuum vollzieht. Dabei wird die durch das Filter rinnende Farblösung zweckmäßig in kleinen, vorher mit Alkohol und Aether sorgfältig gereinigten, in den Absaugekolben gestellten Reagensgläschen aufgefangen. Statt Asbestfilter können noch weit besser Liliputfilterkerzen (nach v. Wunschheim, Silberschmidt u. a.) verwendet werden, die aber wohl nur in den wenigsten Laboratorien zur Verfügung stehen.

4) Die filtrierte Lösung wird noch in ebenfalls mit Alkohol und Aether sauber gespülten Röhrchen 3mal $^1/_2$ Stunde lang stark zentrifugiert.

5) Dann wird die obere Hälfte der zentrifugierten Lösung in ein vorher mit Alkohol und Aether gereinigtes Fläschchen mit eingeschliffenem Stöpsel vorsichtig abgegossen und zum Gebrauch aufgehoben.

Bei mikroskopischer Betrachtung einer dünnen Schicht der so gewonnenen Farblösung hat man auch bei Verwendung stärkster Systeme ein homogenes, bei Tageslicht blau-violettes, bei künstlicher Lichtquelle mehr rötlich-violettes Medium, in dem suspendierte Objekte sich als helle ausgesparte Lücken darstellen.

Die Herstellung der Präparate geschieht so, daß man auf sorgfältig mit Aetheralkohol gereinigte geschliffene Objektträger 1 Platinöse der Farblösung aufträgt und in diesem Tröpfchen eine weitere Platinöse des zu untersuchenden Materiales vorsichtig mischt, dann ein dünnes, sorgfältig gesäubertes Deckglas auflegt und durch sanften Druck die Flüssigkeit in dünnster Schicht ausbreitet.

Die Untersuchung erfolgt mit apochromatischer Oelimmersion und Immersionskondensor. Fehlt gutes Tageslicht, so wendet man eine mit Blauglas abgeschwächte Nernst-Lampe an.

In den Präparaten sieht man dann die subtilsten Objekte, ich erwähne noch einmal das Beispiel der Blutstäubchen und Blutfäden, in gleicher Zahl wie im Dunkelfeld in Eigenform, Eigenfarbe und Eigenbewegung, im dunkleren Medium suspendiert. Sehr schöne Bilder erhält man auch, wenn man gröbere Objekte mit dieser Methode untersucht, so Bakterien (Streptokokken, agglutinierte Typhusbacillen), Spirochäten (Initialsklerose, Plaut-Vincentsche Angina), Amöben (im Stuhl), Plasmodien (im Blut), Blutplättchen u. dgl. m.

Erwähnt möge zum Schlusse noch werden, daß der oben beschriebene Farbstoff in gleicher Weise wie chinesische Tusche und Collargollösung zu Trockenausstrichpräparaten nach Burri verwendet werden kann.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ein improvisierbarer Thermoregulator für Petroleumbeleuchtung.

Von K. k. Regimentsarzt Dr. **Wilhelm Kulka** (Graz) und
Bezirksarzt Dr. **Antal Sztahovszcky** (Igló).

Mit 4 Figuren.

Die Tätigkeit in den mobilen Feldlaboratorien ist nur zu oft durch Mangel an Leuchtgas erschwert. Besonders die Beheizung der Brutkästen leidet dann unter dem Abgang brauchbarer Thermoregulatoren, welche die Flammengröße der Petroleumlampe direkt beeinflussen. Da wir jetzt über einen solchen erprobten und bei einigem technischen Geschick leicht improvisierbaren und transportablen Apparat verfügen, folgt im folgenden die Beschreibung desselben.

Der Apparat besteht im wesentlichen aus 2 Teilen: dem temperaturempfindlichen (Fig I) und dem Flammenregler (Fig. III).

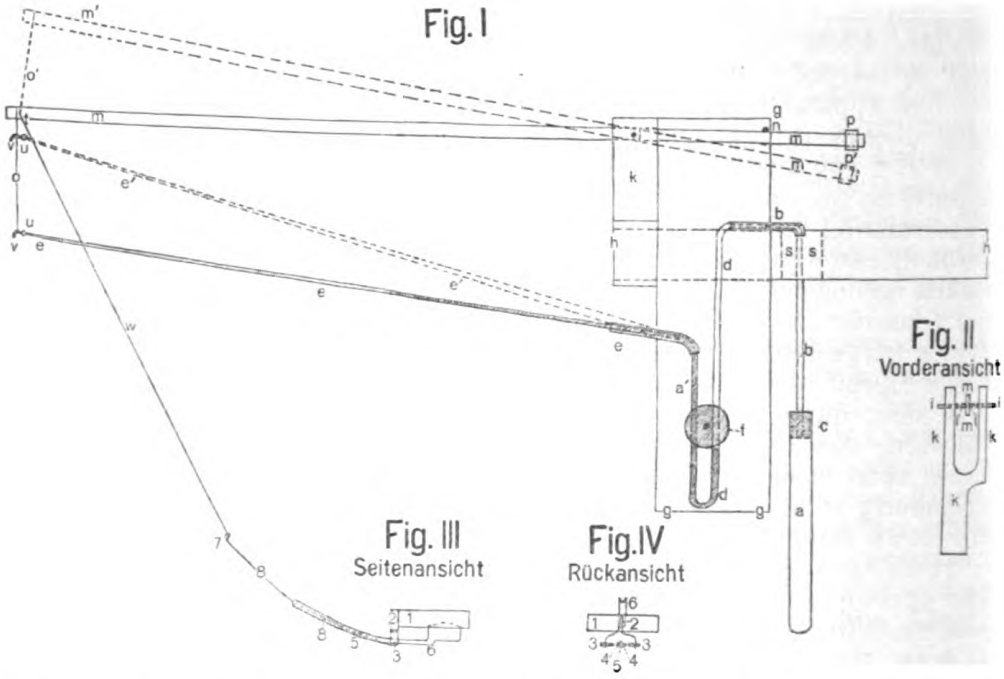
Teil I wird auf den Thermostaten aufgelegt und taucht mit der Eprouvette (*a*) und einem Teil des aufsteigenden Glasrohres (*b*) in den Wassermantel des Brutkastens ein. Er besteht aus einer starkwandigen, gewöhnlichen Eprouvette (*a*); an diese schließt sich ein einmal rechtwinklig gebogenes Glasrohr (*b*). Die Verbindung zwischen Eprouvette und Glasrohr wird durch einen gut passenden, durchbohrten Gummistopfen hergestellt, der noch durch einen 3 cm breiten Leukoplaststreifen an der Eprouvette befestigt wird. An das obere Ende dieses Glasrohres setzt sich, durch einen stärkeren Gummischlauch „Glas an Glas" geschlossen, das oben einmal rechtwinklig gebogene „U"-Rohr (*dd'*) an. Dieses setzt sich seinerseits wieder durch eine gut angepaßte Schlauchverbindung in die subkapillar ausgezogene Glasröhre *ee* fort. Die letztere ist an ihrem Ende offen und hakenförmig umgebogen. Die Röhre *dd'* ist durch eine ca. 5 mm dicke Korkscheibe und Schraube an das Brettchen *gg* befestigt. Letzteres wird durch die Leiste *hh* in seiner Lage gehalten. Die Leiste im hinteren Anteil ist ca. 5 cm breit, vorn aber ca. 4 cm tief ⊔-förmig eingeschnitten, so daß hier nur ein schmaler Holzstreifen bleibt, an welchem das ca. 5 mm starke Brettchen *gg* und die Holzgabel *kk* (Fig. II) angenagelt sind. Die Gabel wird, um Verschiebungen zu vermeiden, überdies noch durch einen Nagel in frontaler Richtung an das Brettchen befestigt. Die Beschaffenheit der Gabel und der in ihr befindlichen 2 Schrauben (*ii*), welche das Achsenlager für die Achse des Hebels (*mm'*) bilden, sind aus Fig. III ersichtlich. Die Spitzen der beiden Schrauben wurden abgezwickt und an dieser Stelle mit Hilfe eines kleinen Bohrers oder einer Feile je eine flache Höhlung gebohrt, welche als Achsenlager den an beiden Enden scharf zugespitzten Nagel (*ll*) aufnehmen. Dieser trägt den mit der Achse *ll* frei beweglichen ungleicharmigen Hebel (*mm*), welcher aus einer von oben nach unten 8 mm dicken und 2 mm breiten Holzleiste besteht. Am Hebel befindet sich das Laufgewicht *p*. Dieses wurde in unserem Falle aus mehreren in Streifen geschnittenen und zusammengehämmerten Amalgamstreifen (Weinflaschenkapseln) hergestellt, die dann um die Holzleiste gerollt wurden. Die kleine Schraube (*n*) am Brettchen *gg* dient als Hemmung und verhindert bei Uebergewicht links das völlige Uebergehen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

des Hebels (*mm*) mit der Kapillare in die Horizontale. Der (mit einem Heftpflasterstreifchen) am Ende des Hebels befestigte Zwirnfaden (*o*) geht unten in eine kleine Schlinge über, in welcher das hakenförmige Ende der Glaskapillare (*v*) ruht.

Die Eprouvette *a*, das aufsteigende Glasrohr (*b*) und der anstoßende Ast des „U"-Rohres werden bis zur Linie *rr* mit absolutem Alkohol (ohne Luftblasen!), von da mit Quecksilber gefüllt, welches bei Zimmertemperatur bis zum Beginn der Kapillare reicht[1]).

Der Regulator der Flammengröße (Fig. III u. IV) besteht aus einem ringförmig gebogenen Eisenstreifen (*1*), welcher (bei *2*) durch einen kleinen aufgenieteten Bügel zusammengehalten wird und zum Aufsetzen des Apparates auf den Brennerrand dient. Der Bügel trägt an seinem unteren Ende 2 kleine Schrauben (*3*), welche mit ihren Spitzen die



Achse (*4*) des um ca. 120° geknickten Winkelhebels (Eisenstreifen, der am linken Ende leicht beschwert ist) (*5*) halton. Der letztere trägt an seinem äußeren Ende einen seine Richtung fortsetzenden Draht, der am Ende in ein Häkchen (*7*) umgebogen ist. Der innere Hebelarm besteht aus einem parallel zusammengefalteten Blechstreifen (*6*), dessen Form Fig. III zeigt. Derselbe ist an den Hebel bis über die Achse hinaus zu beiden Seiten angenietet. Die so entstandene Schlinge muß ebenso weit sein, daß sie die Dochthülse des jeweiligen Brenners bequem um-

1) Die Füllung erfolgt am besten in der Weise, daß zuerst das abmontierte Glasrohr *b* mit der Eprouvette *a* bei locker aufgesetztem Gummistopfen sowie ein Teil der Gummiverbindung mit Alkohol gefüllt werden. Wenn man dann nach Verbindung mit dem U-Rohr bei entsprechend schräger Haltung den Kautschukpfropfen fester einpreßt, steigt der Alkohol, soweit notwendig, in das U-Rohr über. In derselben Haltung folgt dann von der anderen Seite vorsichtig das Einfüllen des Quecksilbers ebenfalls unter teilweiser Füllung des Gummischlauches. Wird dann die Kapillare angesetzt, so tritt das Quecksilber eben in dieselbe ein.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

faßt. Um dem Winkelhebel freien Spielraum zu verschaffen, muß das Einfassungsgitter des Brenners an dieser Stelle entsprechend tief eingeschnitten werden. Weitere Aenderungen sind bei gewöhnlichen Brennern nicht notwendig.

Das Häkchen (*7*) des Flammenreglers wird dann mit dem Ende des Hebels *mm* bei *t* gleichfalls durch einen Zwirnfaden verbunden, und die Funktion ist nun folgende: Das Gewicht des Hebels *mm* und der daran aufgehängten leeren Kapillare wird durch das Laufgewicht *p* derart ausgeglichen, daß der linke Arm so weit nach aufwärts geht und damit der rechte Hebelarm des Flammenreglers so weit gesenkt wird, bis der Docht mit voller Flamme brennen kann. Sowie sich aber infolge Erwärmung der Alkohol ausdehnt, tritt Quecksilber in die Kapillare über, beschwert den linken Hebelarm, dieser senkt sich je nach Maßgabe der hinzugekommenen Mehrbelastung und mit ihm der linke Arm des Flammenreglers, während die im Brenner befindliche Schleife in die Höhe steigt und so die Flamme entsprechend verkleinert. Umgekehrt spielt die Apparatur, wenn die Temperatur des Mediums (i. e. des Füllwassers im Mantelraum des Thermostaten), in welchem der Alkohol sich befindet, sinkt.

Die Achse des Hebels *mm* und die Berührungsstelle der „U"-Röhre mit dem Ansatz der Glaskapillare (Achse der Kapillare) sollen womöglich senkrecht untereinander situiert sein. Um das Hebelspiel noch empfindlicher zu gestalten, wurde neben dem großen Laufgewicht *p* noch ein kleines aus demselben Material an der Kapillare neben dem Glashäkchen angebracht (*vs*). Die kleine Schraube *n* hat den Zweck, ein Ueberkippen des Hebels mit Kapillare ganz in die Horizontale, oder gar darunter, zu verhindern, da hierbei der Quecksilberfaden reißen könnte, was eine Umfüllung des Quecksilbers notwendig machen würde. Das Ueberkippen könnte bei starken Erschütterungen eintreten, oder wenn der Flammenregler einmal aus äußeren Hemmnissen oder infolge zu starker Verschmutzung des Dochtes einmal in seiner Funktion gestört und damit die Temperatur allzu hoch steigen sollte. Die aus der Zeichnung Fig. III ersichtliche stumpfwinklige Form der Blechhülse *6* (rechter Hebelarm) des Flammenreglers ist notwendig, damit die Verkleinerung der Flamme in erwünschter Weise vor sich gehen kann.

Die Einstellung des Hebels sowie die Höhe der vollen Flamme am Brenner erfolgt empirisch, hängt von der angestrebten Temperatur, der Größe der Lampe und des Thermostaten ab. Der Docht ist gerade zu schneiden und auf dessen Reinhaltung zu achten, damit der Blechstreifen (*6*) sich nicht reibt oder hängen bleibt.

Der Apparat ist, einmal hergestellt, in seiner jetzigen Form leicht zu zerlegen, kann daher bequem transportiert und einzelne Teile ohne weiteres überall ersetzt werden. Er hat uns jetzt durch viele Wochen wiederholt sehr gute Dienste geleistet.

Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Inhalt.

Adsersen, Vald., Die Spezifizität des Drusestreptococcus, mit besonderer Berücksichtigung des Vergärungsvermögens gegenüber Kohlehydraten, p. 111.
Beretta, Arturo, Mikrobenlokalisationen in der Zahnpulpa auf dem Wege der Blutbahn, p. 124.
Bertarelli, E., u. **Bocchia, I.**, Experimentelle Untersuchungen über die Zahl der Keime und die Infektionen, p. 184.
Fermi, Claudio, La virulence, respectivement la dose minima mortelle de la salive et des glandes salivaires rabiques comparée à celle de la substance nerveuse rabique, p. 178.
Galli-Valerio, B., La méthode de Casares-Gil pour la coloration des cils des bactéries, p. 233.
Hadley, Philip B., On the transmission from mother to offspring of immunity against fowl cholera, p. 196.
Jacobitz, Choleruntersuchungen, p. 97.
Knack, A. V., Die Untersuchung im künstlichen Dunkelfeld, p. 235.
Kohl-Yakimoff, Nina (†) u. **Yakimoff, W. L.**, Hämogregarinen der Seefische, p. 135.
Kulka, Wilhelm u. **Sztahovszcky, Antal**, Ein improvisierbarer Thermoregulator für Petroleumbeleuchtung, p. 237.
Lanz, August, Die Kresolseifenlösungen des Handels und des Deutschen Arzneibuches, Ausgabe vier und fünf, p. 206.
Gräfin v. Linden u. Zenneck, L., Untersuchungen über die Entwickelung der freilebenden Generationen der Lungenwürmer, p. 147.
v. Lingelsheim, W., Zur Frage der Verwendbarkeit alkalischer Blutnährböden für die praktische Choleradiagnose, p. 108.
Ozaki, Y., Zur Kenntnis der anaëroben Bakterien der Mundhöhle. II. Ueber einen Micrococcus, p. 118.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 76. Heft 4.
Ausgegeben am 28. Juni 1915.

Friedrich Loeffler †.

Von Prof. Dr. **Abel** in Jena.

Am 9. April hat Friedrich Loeffler die Augen für immer geschlossen.

Sein Lebenswerk den Lesern des Centralblattes für Bakteriologie und Parasitenkunde noch einmal vor Augen zu führen, könnte fast als müßiges Beginnen erscheinen. Ist doch Loeffler einer der Heroen der bakteriologischen Forschung, dessen Name jedem Arzte über den ganzen Erdball hin geläufig ist, und den zu den Unseren zählen zu dürfen, für uns jetzt als Barbaren verschrieene Deutsche Stolz und Freude ist. In unserer schnellebigen Zeit aber wird der Name selbst hochbedeutender Männer gar zu leicht zum Schemen, zum Worte ohne Inhalt. Mögen daher, wie Dankbarkeit und Pietät gebieten, dem Gedächtnis des Dahingegangenen einige kurze Worte gewidmet sein, für die keine geeignetere Stätte zu finden wäre, als dieses Centralblatt, das Loeffler vor 28 Jahren im Verein mit Uhlworm und Leuckart ins Leben gerufen hat, an dessen Leitung er bis zu seinem Tode beteiligt gewesen, in dem er selbst mit manchem wichtigen Forschungsergebnis zuerst hervorgetreten ist, und das ihm schon zu seinem sechzigsten Geburtstage im Jahre 1912 durch Darbietung eines Festbandes eine Huldigung gebracht hat.

Friedrich Loeffler, am 24. Juni 1852 zu Frankfurt a. O. geboren, war der Sohn eines Mannes, dessen Name als der eines Vorkämpfers für die Hebung der Stellung des Militärarztes und ihre Ausgestaltung zu der eines Sanitätsoffiziers hervorragenden Klang hat, des als Subdirektor der jetzigen Kaiser Wilhelms-Akademie für das militärärztliche Bildungswesen gestorbenen Generalarztes Dr. Friedrich Loeffler. Die Stellung des Vaters beeinflußte, wie es nahelag, die Berufswahl des Sohnes. Nach kurzer Studienzeit in Würzburg, von der aus er mit in den Krieg von 1870/71 zog, setzte Loeffler seine Ausbildung in den militärärztlichen Studienanstalten zu Berlin fort, legte 1874 sein Staatsexamen ab und war dann mehrere Jahre Militärarzt in Hannover und

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Potsdam. 1879 erhielt er ein Kommando an das einige Jahre zuvor errichtete Kaiserliche Gesundheitsamt und war dort zuerst mit hygienisch-technischen Untersuchungen, insbesondere der Erprobung von Apparaten zur Prüfung des Entflammungspunktes von Petroleum, beschäftigt. Als kurze Zeit darauf der durch seine Aufsehen erregenden bakteriologischen Arbeiten schnell bekannt gewordene Kreisphysikus Robert Koch aus Wollstein als Regierungsrat in das Gesundheitsamt berufen wurde, bat Loeffler, der die Tragweite der Kochschen Forschungsarbeiten richtig erkannte, diesem zugewiesen zu werden, und fand so, mit Gaffky der erste Schüler und Mitarbeiter Kochs, in frühem Lebensalter das Feld, auf dem er so große Erfolge erreichen konnte. Einige Jahre darauf als Stabsarzt an das militärärztliche Bildungsinstitut kommandiert, dann Leiter des Laboratoriums in einem großen Berliner Garnisonlazarett, habilitierte sich Loeffler 1886 als Privatdozent für Hygiene in Berlin, trug sich eine Zeitlang mit dem Gedanken, in die Medizinalbeamtenlaufbahn überzugehen, erhielt dann aber im Herbst 1888 einen Ruf auf den neu errichteten Lehrstuhl für Hygiene zu Greifswald und blieb in dieser Stellung volle 25 Jahre, obwohl sich ihm zweimal die Möglichkeit bot, anderwärts eine akademische Tätigkeit zu übernehmen. Mit Freuden folgte er dagegen im Herbst 1913 der Berufung zum Direktor des Instituts für Infektionskrankheiten Robert Koch zu Berlin, zu der Stätte, an der sein großer und geliebter Meister Koch viele Jahre gearbeitet, und an der Gaffky als erster Nachfolger Kochs der Tradition des Meisters getreu fortgewirkt hatte.

Die Reihe von wissenschaftlichen Abhandlungen, die Loeffler im Laufe seiner 35 Jahre bakteriologisch-hygienischer Forschung — wie Robert Koch übrigens ein Feind von Vielschreiberei und nur ausgereifte, in sich abgeschlossene Untersuchungen bekanntgebend — veröffentlicht hat, soll hier nicht in ganzem Umfange wiedergegeben werden. Nur die wichtigsten Ergebnisse seiner Lebensarbeit seien kurz zusammengestellt.

Da ist als folgenreichste seiner zahlreichen Entdeckungen vor allem zu nennen der Nachweis des Diphtheriebacillus als Erregers der Diphtherie im Jahre 1884, dem sich 1888 die gleichzeitig mit Roux und Yersin gemachte Beobachtung anschloß, daß der Diphtheriebacillus ein lösliches Gift in sein Kulturmedium abgibt. Durch diese beiden Feststellungen waren die Grundlagen geschaffen, auf denen fußend dann Behring seine glänzende Entdeckung der Diphtherieantitoxinbildung im Tierkörper aufbauen konnte, die wiederum zur Herstellung des Diphtherieheilserums und zu der so erfolgreichen Niederdrückung der Sterblichkeit an der Diphtherie führte.

Schon die Entdeckung des Diphtherieerregers allein würde genügen, Loefflers Namen unsterblich zu machen. Ihr reihen sich aber weiter an die Auffindung der Erreger der Rotzkrankheit 1882 und mehrerer,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bis dahin klinisch und ätiologisch nicht klar trennbarer Seuchen der Schweine, darunter des Schweinerotlaufs, Arbeiten, die für die heute fein ausgebildeten Verfahren zur Erkennung und Bekämpfung dieser Krankheiten den Ausgangspunkt gebildet haben.

Ein seuchenhaftes Sterben unter den Mäusebeständen seines Instituts im Jahre 1891 ließ Loeffler als Ursache den Bacillus typhi murium nachweisen. Es ist ein Zeichen seines praktischen Blickes, daß er sogleich inne wurde, wie dieser ihm zufällig in die Hände geratene Erreger einer Mäuseseuche zur Bekämpfung der oft so verheerend für die Landwirtschaft auftretenden Mäuseplage Verwendung finden könnte. Es glückte Loeffler, im Jahre 1892 mittels seines Bacillus einen großen Teil der Getreideernte in Thessalien vor der Vertilgung durch Mäuse zu retten, und ebenso hat seitdem der Bacillus in zahllosen Fällen auf deutschen Aeckern seinen Nutzen in der Vernichtung der Mäuse bewährt.

Lange Jahre hat sich Loeffler, zum Teil in Gemeinschaft mit hervorragenden Mitarbeitern, wie Frosch und Uhlenhuth, mit der Ausfindigmachung eines praktisch brauchbaren Immunisierungsverfahrens gegen die Maul- und Klauenseuche beschäftigt. Es gelang ihm, auch diese sehr schwierige Frage im Prinzip zu lösen, indem er zu Methoden gelangte, die das erstrebte Ziel sicher erreichen lassen, während allerdings ihre praktische Verwendbarkeit in Anbetracht ihrer Kostspieligkeit im Verhältnis zum Werte der zu rettenden Objekte noch Gegenstand der Erörterung ist. Als wissenschaftlich außerordentlich wichtiges Ergebnis aber entsprang diesen Untersuchungen zugleich der Nachweis, daß es Krankheitserreger von einer Kleinheit gibt, die sie für unsere heute verfügbaren optischen Hilfsmittel unerkennbar macht; das erste Beispiel der jetzt schon umfangreichen Gruppe der filtrierbaren Virusarten war mit dem Erreger der Maul- und Klauenseuche gefunden.

Zahlreich sind die Bereicherungen der bakteriologischen Technik, die wir Loeffler zu verdanken haben. Hier sei nur erinnert an die nach ihm benannte alkalische Methylenblaulösung, an die vielen besonderen Färbemethoden für Bakterien, an deren Ausgestaltung er mit seltener Geschicklichkeit und unermüdlicher Ausdauer unausgesetzt gearbeitet hat, an sein 1890 veröffentlichtes Verfahren der Geißelfärbung für Bakterien, das erste allgemein brauchbare dieser Art, an sein Malachitgrünverfahren zur elektiven Züchtung der Typhusbacillen, aus dem ein jetzt in allen bakteriologischen Laboratorien benutztes Anreicherungsverfahren für diese Bakterien bei der Züchtung aus Stuhlproben sich entwickelt hat.

Die Grundzüge eines rationellen Desinfektionswesens hat Loeffler zusammen mit Koch und Gaffky in einer allgemein bekannten Arbeit aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt geschaffen. Aus den Jahren seiner dortigen Tätigkeit stammt auch eine ausgezeichnete Arbeit über Immunität, die, noch heute trotz aller Fortschritte gerade auf diesem Gebiete

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sehr lesenswert, grundlegende Fragen, wie z. B. die der Immunitätsvererbung, der unterschiedlichen Empfänglichkeit verschiedener, einander nahestehender Tierspecies, der lokalen und allgemeinen Immunität des Tierkörpers, behandelt.

Von Werken Loefflers über größere Wissensgebiete ist neben einer Abhandlung über das Wasser und die Mikroorganismen in Weyls Handbuch der Hygiene und einer zusammenfassenden Arbeit über die Malaria in der Deutschen Klinik von Leyden und Klemperer zu nennen sein Buch über die geschichtliche Entwickelung der Lehre von den Bakterien, von dem 1887 der erste Teil, etwa bis zum eigenen Eintritt Loefflers in die bakteriologische Forschung reichend, erschienen ist. Wer dieses auf gründlichstem Quellenstudium fußende Werk kennt, kann nur bedauern, daß es ohne die Fortsetzung bis in die neueste Zeit geblieben ist, deren Ausarbeitung Loeffler sich immer als letzte Aufgabe seines Schaffens in Aussicht genommen hatte.

Die unantastbare Richtigkeit jeder Zeile, die Loeffler geschrieben hat, ist der beste Beweis für die Gründlichkeit seiner Arbeit. Ein geborener Optimist in seiner ganzen Lebensauffassung, war er bei der wissenschaftlichen Arbeit doch von dem Skeptizismus beseelt, der zu der unentbehrlichen Peinlichkeit der Forschung führt. Mit unermüdlicher Geduld konnte er die gleiche Arbeit, und schien sie noch so aussichtslos, immer und immer wieder beginnen, um doch vielleicht der Hindernisse Herr zu werden. So hat er jahrzehntelang über Tuberkuloseimmunisierung gearbeitet, nie aber eine Zeile veröffentlicht, weil ihm seine Ergebnisse noch nicht schlüssig schienen.

Streng gegen sich selbst in den Anforderungen an seine Arbeit, war Loeffler den Leistungen anderer gegenüber ein stets milder, mit Anerkennung nie geizender Beurteiler, seinen Schülern im Laboratorium ein anregender, immer freundlicher Lehrer. Eine Kraftnatur auch in körperlicher Beziehung, liebte er es, nach außen hin ein manchmal etwas derb und rauh anmutendes Wesen zur Schau zu tragen, das aber seinem durchaus liebenswürdigen, ja gegen Hilfe Begehrende manchmal sogar zu weichem Charakter tatsächlich fremd war. Für äußere Anerkennungen, die ihm in reichem Maße zuteil geworden sind — er war mit Orden, namentlich ausländischen, reich bedacht, Ehrendoktor von Gießen und Aberdeen, Ehrenbürger der Stadt Greifswald — war er nicht unempfänglich. Bei allen seinen Erfolgen aber blieb er ein Mann von größter Anspruchslosigkeit und Bescheidenheit im Auftreten. Er gewann im Augenblick alle Herzen und hatte wohl kaum einen wirklichen Feind.

Als der Krieg im letzten Herbste ausbrach, ging Loeffler, der sich immer gern als Militärarzt fühlte, sogleich in der Stellung eines Generalarztes und konsultierenden Hygienikers einer Armee mit ins Feld, ebenso kraftvoll und begeistert, wie als 18-jähriger Jüngling 44 Jahre zuvor. Die ersten, sich schnell verschlimmernden Zeichen

Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

einer ernsten Erkrankung im Dezember 1914 wollte er nicht sehen und blieb im Dienste, bis Ende Januar sein Zustand ihn zur Heimkehr zwang. Von seinem Leiden konnte ihn die Kunst des Chirurgen nicht befreien. Nach langem Kampfe erlag er, bis in die letzten Tage seines Lebens, auch in seinen Phantasieen, noch von wissenschaftlichen Fragen, ihn beschäftigenden Problemen redend. Zu früh starb er, den in seiner strotzenden Gesundheit noch vor wenig Monaten niemand dem Tode nahe glauben konnte, und von dem noch manche treffliche Leistung zu erwarten gewesen wäre.

Dankbarkeit und ein ehrendes Gedächtnis aber muß ihm bewahren die Bakteriologie, deren ersten Meister einer er war, die Landwirtschaft und Tierzucht, der er so manchen unschätzbaren Dienst durch seine Forschungen geleistet hat, das Vaterland, das auf den tüchtigen Mann mit Stolz blicken kann, die ganze Menschheit, der er die Befreiung von einer der schwersten kindermordenden Seuchen, der Diphtherie, angebahnt hat.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die der Coli-Typhusgruppe angehörigen Erreger von Kälberkrankheiten.

[Aus dem Bakteriologischen und Serum-Institut Landsberg a./W., Direktor: Dr. O. Schreiber.]

Von Dr. med. vet. **W. Stickdorn,** techn. Abteilungsleiter am Institut.

In ätiologischer Beziehung spielen bei den Infektionskrankheiten der Kälber die Bakterien der Coli-Typhusgruppe, und zwar in der Hauptsache das Bact. coli und die verschiedenen Unterarten des Bac. paratyphi, eine wichtige Rolle. Das Bact. coli wurde von Jensen und Poels zuerst als Erreger der Kälberruhr beschrieben. Bald stellte es sich jedoch heraus, daß auch andere Bakterien bei der genannten Erkrankung mitwirkten und als Erreger in Betracht kamen. So fand Jensen in 208 Kälberruhrfällen 148mal Coli-, 15mal Paracolibacillen, ferner Diplokokken, Abortus- und Proteusbacillen. Mit Paracolibacillen bezeichnete Jensen diejenigen Stämme der Coli-Gruppe, die Laktose nicht vergären.

Titze und Weichel prüften 210 Kälberruhrstämme, von denen sich 160 als Bact. coli commune, 24 als Bac. enteritidis Gärtner, 16 als Pseudocoli-, 4 als Paracolibacillen, 2 als Bac. paratyphi B erwiesen. Diese Autoren bezeichneten als Pseudocolibacillen solche Coli-Bacillen, die Milch nicht zur Gerinnung brachten, als Paracolibacillen solche, die sich nur durch die Agglutination vom Bac. paratyphi B und Bac. enteritidis Gärtner unterscheiden ließen. Schmitt fand in 63 Fällen von Ruhr, Septikämie und Lungenbrustfellentzündung 9mal, unter 19 Kadavern einer Kälberruhrepizootie 8mal, unter 16 anderen Fällen 2mal Paratyphusbacillen.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

An dem dem hiesigen Institute zu Untersuchungszwecken zugehenden Materiale hatte ich ebenfalls Gelegenheit, festzustellen, daß neben Coli- auch Paratyphusbacillen bei der Kälberruhrinfektion eine Rolle spielen, und zwar wurden in den Jahren 1913 und 1914 in 251 Fällen von rein durch Bakterien der Coli-Typhusgruppe verursachter Kälberruhr 233mal Bac. coli (= 92,8 Proz.) und 18mal Paratyphusbacillen (= 7,2 Proz.) ermittelt, außerdem fanden sich Streptokokken, Bac. alcaligenes, Proteus und fluorescens. Es ergibt sich also für die Kälberruhr nur eine relativ schwache Beteiligung der Paratyphusbacillen gegenüber Bac. coli.

Erheblich größer ist sie bei der septischen Pneumonie der Kälber. Während zunächst als Erreger dieser Krankheit von Poels und Jensen ovoide, sich bipolar färbende Bakterien (Bac. vitulisepticus) angesprochen wurden, zeigte es sich bald, daß auch andere Mikroorganismen als Ursache in Frage kamen, und zwar fanden Thomassen, Poels, Müller, Schreiber und Jensen, wie bei der Kälberruhr, coliähnliche Bacillen, die sich aber vom Bac. coli dadurch unterschieden, daß sie Laktose nicht vergoren und daher Paracolibacillen genannt wurden. Durch die Untersuchungen von Uhlenhuth und Hübener ergab sich nun die völlige Uebereinstimmung sowohl der Ruhr- wie der Pneumonie-Paracolibacillen mit der der großen Paratyphusgruppe angehörigen Fleischvergiftergruppe des Bac. enteritidis Gärtner, was von Titze und Weichel, sowie von Langkau und Savage bestätigt wurde. Weiter wies Schmitt die aus Ruhr- und Pneumoniekälbern gezüchteten Paratyphusbacillen zum Teil ebenfalls der Gruppe des Bac. enteritidis Gärtner, zum Teil aber auch der des Bac. paratyphi B zu. Schern konnte feststellen, daß sich die aus Menschen und aus Tieren isolierten Paratyphus B- und Gärtner-Bacillen nicht unterscheiden. Daß die aufgefundenen Paratyphusbakterien keine zufälligen Befunde darstellen, konnte Schmitt beweisen, der durch Verimpfung von Reinkulturen künstlich Lungenbrustfellentzündung bei Kälbern erzeugte.

Die Beteiligung dieser Bakteriengruppe an den Erkrankungen an Kälberpneumonie ist eine sehr große: Jensen fand in 98 Fällen 46mal Paracolibacillen (= 47 Proz.). Unsere Untersuchungen stimmen damit ungefähr überein. In den Jahren 1913/14 wurden in der pathologisch-anatomischen Abteilung des Landsberger Institutes 170 Fälle von Kälberpneumonie untersucht, in denen außer Staphylo-, Strepto- und Diplokokken 85mal bipolare Bakterien (= 50 Proz.) und 56mal Paratyphusbacillen (= 33 Proz.) ermittelt wurden.

Aus diesen Zahlen ergibt sich für die Serumtherapie der Kälberpneumonie, daß eine Impfung mit den gewöhnlichen, im Handel befindlichen Pneumonieseren gegen bipolare Bakterien sich nur etwa in der Hälfte aller Fälle als wirksam erweisen kann, während doch fast ebenso oft die Anwendung eines Paratyphusserums angezeigt ist, so daß eine genaue bakteriologische Diagnose in jedem Falle vor Anwendung der Impfung unbedingt zu fordern ist.

Die Bakterienstämme nun, die im Institut zur Herstellung der der Bekämpfung der Kälberruhr und Kälberpneumonie dienenden Coli- und Paratyphusseren benutzt werden, unterzog ich einer eingehenden Prüfung, die sich bei den Coli-Stämmen insbesondere auf ihr kulturelles und chemisch-biologisches Verhalten, bei den Bakterien der Paratyphusgruppe

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

außerdem auch auf ihr agglutinatorisches Verhalten gegenüber Gärtner-, Paratyphus B- und in 2 Fällen anch Typhusseren erstreckte.

A. Bakterien der Coli-Gruppe.

Es standen mir zur Prüfung insgesamt 118 aus Kälberruhrfällen isolierte Coli-Stämme zur Verfügung, die zur Immunisierung der großen Impftiere benutzt wurden. Alle diese Stämme, bis auf den von mir als C bezeichneten, waren morphologisch und kulturell nicht zu unterscheiden. Serologische Differenzierungen waren nur insoweit möglich, als sich feststellen ließ, daß es Stämme gibt, die von einigen polyvalenten Seren leicht agglutiniert wurden, andere wieder, die nur von dem mit ihnen selbst hergestellten, monovalenten Serum beeinflußt wurden, und wieder solche, die einerseits bei den Impftieren überhaupt keine Agglutininbildung auslösten, andererseits auch nicht imstande waren, Agglutinine zu binden. Dieses eigentümliche Verhalten des Bac. coli verhindert eine genaue Aufstellung von Untergruppen, wie sie z. B. bei der Paratyphusgruppe möglich ist, und läßt auch Conradi und Bierast zu dem Schlusse kommen, daß „das sonst so brauchbare diagnostische Hilfsmittel der Agglutination zur Identifizierung der Coli-Stämme vollkommen versagt". Daß im übrigen die Agglutinationsfähigkeit eines Kälberruhrserums zur Beurteilung seines Gehalts an Immunkörpern nicht herangezogen werden kann, zeigte Neumann durch Versuche an kleinen Impftieren. Auch durch die Praxis konnte die Richtigkeit dieses Satzes bestätigt werden. Zu Versuchszwecken wurden im vergangenen Jahr häufig polyvalente Kälberruhrsera abgegeben, die nicht imstande waren, den aus einem Kälberruhrfall des betreffenden Tierbestandes isolierten Coli-Stamm zu agglutinieren. Dennoch erwies sich eine Impfung der kranken Kälber mit solchem Serum als wirksam, so daß durch diese nicht agglutinierenden Seren die Seuche zum Erlöschen gebracht werden konnte. Es kann also ein Coli-Serum wohl bakterizid wirken, ohne Agglutinine zu enthalten.

Konnte nun die serologische Methode, insbesondere die Agglutination, zur Differenzierung der Coli-Gruppe nicht benutzt werden, so war doch eine Trennung in Untergruppen sehr erwünscht, z. B. wenn es sich darum handelte, zwei aus demselben Kalbe oder aus zwei verschiedenen Kälbern desselben Bestandes gezüchtete Coli-Stämme zu identifizieren. Da erwies sich die von Jensen angegebene chemisch-biologische Prüfung durch Vergärung verschiedener Saccharide und höherer Alkohole von großer Wichtigkeit.

Smith hatte zuerst auf die Gasbildung durch Coli-Bacillen auf zuckerhaltigen Nährböden hingewiesen und ebenso wie Keyes und Gillespie zur Differenzierung der gasbildenden Bakterien ein festes Verhältnis von CO_2 zu H angegeben. Schmidt stellte fest, daß Coli-Bacillen, einerlei welchen Ursprungs, lösliche Monosaccharide und Disaccharide vergären, und zwar Laktose schneller und leichter als Saccharose. Auch Jackson erkannte die Bedeutung der Zuckervergärung für die Unterscheidung von Unterarten des Bac. coli, und Stokes, Royal und Stoner geben als die für die Coli-Diagnose geeignetsten Zuckerarten Dextrose, Laktose und Saccharose an. Keyes bestimmte die Gasbildung durch Bac. coli genau für Asparagin und Dextrose. Auch Conkey konnte feststellen, daß sich Coli-Bacillen gegen mehrere Zuckerarten verschieden verhalten. Park prüfte ins-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

besondere das Verhalten des Bac. coli gegenüber Saccharose und fand, daß $^1/_3$ aller Coli-Stämme Saccharose nicht vergärt, während Conkey die Vergärung von Saccharose durch Bac. coli überhaupt bestreitet. Jensen teilt nun die Kälberruhrstämme, die alle Dextrose, Laktose und Maltose vergären, nach ihrem Verhalten gegenüber Saccharose in 2 Untergruppen ein, die A-Gruppe, die Saccharose vergärt, und die B-Gruppe, die dazu nicht imstande ist. Durch das verschiedene Verhalten gegenüber den 5-wertigen Alkoholen Arabinose und Rhamnose, sowie den 6-wertigen Alkoholen Sorbit, Dulzit und Adonit ergeben sich wieder bestimmte Typen dieser beiden Untergruppen, und so kommt Jensen zur Aufstellung eines Schemas, in dem er 3 Typen der Coli A-Gruppe und 5 Typen der B-Gruppe unterscheidet. Besonders häufig soll nach ihm die als A I bezeichnete Form sein, die in allen angewandten Zuckerarten Gas bildet, nur nicht in Adonit.

Meine Untersuchungen, die sich auf 118 Stämme erstreckten, hatten nun folgendes Ergebnis:

Zahl der vergärenden Coli-Stämme	Dextrose	Laktose	Saccharose	Maltose	Sorbit	Arabinose	Rhamnose	Dulzit	Adonit	Gruppe und Typen
4	+	+	+	+	+	+	+	+	—	A I
12	+	+	+	+	+	+	+	—	—	A II
3	+	+	+	+	+	+	+	—	+	A III
1	+	+	+	+	—	+	+	—	—	A IV
3	+	+	+	+	+	+	—	—	—	A V
7	+	+	—	+	+	+	+	+	—	B I
47	+	+	—	+	+	+	+	—	—	B II
30	+	+	—	+	+	+	—	—	—	B III
1	+	+	—	+	—	+	+	+	—	B IV
2	+	+	—	+	—	+	—	—	—	B V
2	+	+	—	+	—	+	+	—	+	B VI
3	+	+	—	+	+	+	+	—	+	B VII
2	+	+	—	+	+	+	—	—	+	B VIII
1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	C

Wir sehen ein erhebliches Ueberwiegen der B-Stämme über die A-Stämme, denn es gehörten zur Coli-Gruppe A nur 23 Stämme (= 19 Proz.), zur Gruppe B 95 Stämme (= 80 Proz.), während 1 Stamm, der mit C bezeichnete, überhaupt keine der benutzten Zuckerarten vergärte.

Unter den A-Stämmen wiederum ist der häufigste Typ A II, der Dulzit und Adonit nicht vergärt, unter den B-Stämmen Typ B II, der Dulzit und Adonit, und B III, der außerdem auch Rhamnose unbeeinflußt läßt.

Ferner ergab sich, daß die von Jensen angegebene Zahl von verschiedenen Typen noch nicht ausreicht, da sich für die A-Gruppe deren 5 und für die B-Gruppe deren 8 aufstellen ließen.

Alle Stämme erwiesen sich im übrigen als typische Vertreter des Bact. coli commune, sowohl was ihre Morphologie und Färbbarkeit, als auch ihr Wachstum auf Agar, Gelatine, Kartoffel, in Bouillon, Lackmusmolke und Milch anbetrifft.

Eine besondere Stellung nimmt der als C aufgeführte Stamm ein, insofern, als ihm jegliches Gasbildungsvermögen vollständig fehlte. Sauerbeck beschreibt ebenfalls einen Colistamm, von ihm mit F bezeichnet, der zwar Milch koaguliert, aber aus Dextrose kein Gas bildet

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und Endo rötet. Desgleichen weist Natonek auf Coli-Stämme ohne Gasbildung hin. Auch über Mutationserscheinungen bezüglich des Gasbildungsvermögens wird berichtet. So erwähnt Hennigson die Eigenschaft mancher Coli-Stämme, die ursprüngliche Fähigkeit der Gasbildung zu verlieren, während Klein Stämme beschreibt, die zunächst in Dextrose und Laktose kein Gas bildeten, allmählich aber diese Fähigkeit erlangten. Zwei Stämme, die in Laktose Gas erzeugten, verloren diese Eigenschaft, wenn die Einwirkung des Zuckers fehlte. Auch Baerthlein beschreibt nach Paratyphus B hin mutierende Stämme, die Laktose nicht vergoren, und beobachtete Erwerb oder Verlust der Fähigkeit, bestimmte Zuckerarten zu vergären. Revis konnte durch Zusatz wachsender Mengen Malachitgrün das Gasbildungsvermögen hemmen, so daß dauernde neue Arten entstanden.

Die Prüfung des Stammes C ergab nun folgendes: dicke Stäbchen, nach Gram nicht färbbar. Bouillon wurde getrübt und bildete einen schleimigen Bodensatz; Gelatine wurde nicht verflüssigt; auf Agar entstanden grauweiße, runde, dicke Kolonieen, auf Kartoffel ein gelblicher, saftiger Belag, der später braune Farbe annahm; Milch wurde in 24 Stunden zur Gerinnung gebracht, Lackmusmolke in derselben Zeit getrübt und gerötet. Dagegen blieb Neutralrotagar unverändert, und in allen angewandten Zuckerarten wurde dauernd kein Gas gebildet. Doch trat in Dextrose, Laktose, Sorbit, Maltose und Rhamnose Säurebildung auf. Die Eigenschaft, kein Gas zu bilden, war dem Stamm von der Isolierung aus dem erkrankten Organ an eigen. Alle Versuche, ihn durch längere Fortzüchtung auf zuckerhaltigen Nährböden zur Gasbildung anzuregen, waren vergeblich. Auch nach häufig vorgenommenen Passagen durch graue und weiße Mäuse, die durch 0,1 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur in einem Tage getötet wurden, konnte immer wieder ein Coli-Stamm herausgezüchtet werden, der dem Ursprungsstamm C vollkommen glich und jedes Gasbildungsvermögen vermissen ließ. Es handelte sich demach nicht um Mutationsvorgänge, sondern um eine bestimmte Varietät des Bac. coli. Als weitere Eigenschaft des Stammes C sei noch erwähnt, daß er von einem homologen Kaninchenserum, ebenso wie von mehreren anderen mono- und polyvalenten Coli-Seren nicht agglutiniert wurde.

Es ergibt sich aus Vorstehendem die Wichtigkeit der Prüfung der Gasbildungsfähigkeit bei Coli-Stämmen nicht nur für die Identifizierung und Gruppeneinteilung, sondern auch für die Erkennung atypischer Stämme, wie des beschriebenen Stammes C.

B. Bakterien der Paratyphus-Gruppe.

I. Typische Stämme.

Es standen mir zur Untersuchung weiter 25 typische Stämme der Paratyphus-Gruppe im weiteren Sinne zur Verfügung, die aus Pneumonie- und Ruhrkälbern isoliert waren. Als Charakteristika dieser Gruppe sehe ich mit Seiffert folgende Merkmale an, die auch bei den benutzten 25 Stämmen übereinstimmten und zutrafen: Gramnegative, bewegliche Stäbchen, keine Indolbildung, Vergärung von Dextrose, keine Vergärung in Laktose, Milch wird nicht zur Gerinnung gebracht, Gelatine nicht verflüssigt, Lackmusmolke wird erst gerötet, dann gebläut. Durch diesen Farbenumschlag in Lackmusmolke ergab sich die Differentialdiagnose gegenüber Paratyphus A einerseits und dem Bac. alcaligenes anderseits. Die Zuteilung zu den Untergruppen des Bac. enteritidis

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gärtner und des Bac. paratyphi B im engeren Sinne erfolgte durch Agglutination mit künstlich hergestelltem Gärtner- und Paratyphus B-Serum, das dem Institut von Herrn Prof. C. O. Jensen in Kopenhagen freundlichst zur Verfügung gestellt war. Danach ergab es sich, daß von den 25 Stämmen 13 der Gärtner-Gruppe zuzurechnen waren, 7 verhielten sich wie Paratyphus B-Bacillen und die 5 übrigen Stämme wurden von keinem der beiden Seren über einen gewissen Anfangstiter hinaus agglutiniert. Dieser Befund stimmt vollständig mit Jensens Ergebnissen überein, der die Kälberparacolistämme nach ihrem serologischen Verhalten in 3 Gruppen einteilt. Und zwar gehören nach ihm die meisten zur Gärtner-, eine kleinere Zahl zur Paratyphus B-Gruppe, während einzelne durch Agglutinine nicht in nennenswertem Grade beeinflußt werden. Uhlenhuth und Hübener bezeichnen solche Stämme, die sich morphologisch und kulturell wie Paratyphus B- bzw. wie Gärtner-Bacillen verhalten, aber von Paratyphus B- und Gärtner-Seren nicht agglutiniert werden, als Paratyphus C.

Es erschien mir nun von Wert, diese serologisch als Gärtner-Paratyphus B- und Paratyphus C-Bacillen festgestellten Stämmen auf ihr verschiedenes biochemisches Verhalten in Bezug auf ihre Fähigkeit, die schon zur Coli-Differenzierung benutzten Saccharide und höheren Alkohole zur vergären, zu untersuchen. Einerseits war so eine Differenzierung innerhalb der serologisch erkannten Untergruppen zu erhoffen, anderseits war zu prüfen, ob diese Untergruppen sich unter sich vollständig gleichartig verhielten und ob sich ergebende Unterschiede mit der serologischen Einteilung in 3 Untergruppen etwa übereinstimmten. In diesem Sinne unterscheidet Jensen 2 Untergruppen der Paracolistämme, solche, die Arabinose vergären, und solche, die dies nicht tun. Dagegen fand Biewald, daß die Kälberstämme Arabinose überhaupt nicht vergären, was Bahr, Raebiger und Grosso allgemein nur für die Gärtner-Stämme behaupten. Uhlenhuth und Hübener geben an, daß die Paratyphus B-Gruppe Gas bildet in Dextrose, Mannose, Maltose, Arabinose, Rhamnose, Dulcit, Mannit und Sorbit, kein Gas dagegen in Saccharose, Laktose, Raffinose und Glyzerin. Nach Christiansens Befund vergären aus Kälberruhrfällen gezüchtete Paratyphusbacillen Arabinose sehr verschieden.

Das Ergebnis meiner Untersuchungen geht nun aus den untenstehenden Tabellen hervor:

a) Vergärung der 13 Gärtnerstämme.

Stamm-No.	Dextrose	Laktose	Saccharose	Maltose	Sorbit	Arabinose	Rhamnose	Dulzit	Adonit
3	+	—	—	+	+	—	—	+	—
7	+	—	—	+	+	—	—	—	—
26	+	—	—	+	+	+	—	—	—
9	+	—	—	+	+	—	—	+	—
8	+	—	—	+	+	—	—	—	—
19	+	—	—	+	—	—	—	—	—
18	+	—	—	+	+	—	—	—	—
29	+	—	—	+	+	—	+	+	—
35	+	—	—	+	+	—	—	+	—
23	+	—	—	+	—	—	—	—	—
54	+	—	—	—	+	—	—	—	—
51	+	—	—	+	+	+	—	—	—
53	+	—	—	+	+	—	—	—	—

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

b) Vergärung der 7 Paratyphus B-Stämme.

Stamm-No.	Dextrose	Laktose	Saccharose	Maltose	Sorbit	Arabinose	Rhamnose	Dulzit	Adonit
45	+	—	—	+	+	+	+	+	—
25	+	—	—	+	+	+	+	—	—
27	+	—	—	+	—	+	+	—	—
5	+	—	—	+	+	+	+	—	—
22	+	—	—	+	+	+	—	—	—
15	+	—	—	+	—	+	+	—	—
4	+	—	—	+	+	+	+	+	—

c) Vergärung der 5 Paratyphus C-Stämme.

Stamm-No.	Dextrose	Laktose	Saccharose	Maltose	Sorbit	Arabinose	Rhamnose	Dulzit	Adonit
30	+	—		+	+	+	—	+	—
37	+	—	—	+	+	—	+	+	—
38	+	—	—	+	+	—	—	—	—
40	+	—	—	+	—	+	—	—	—
41	+	—	—	+	+	—	+	—	—

Eine Vergleichung der 3 Tabellen lehrt ohne weiteres, daß sich die Gärtner-Stämme gegenüber den angewandten Zuckerarten erheblich indifferenter verhalten, als die Paratyphus B-Stämme, während die C-Stämme eine Mittelstellung einnehmen. Was die einzelnen Zuckerarten betrifft, so wurde von den aufgeführten typischen Stämmen in Dextrose immer, in Laktose, Saccharose und Adonit niemals Gas gebildet. Maltose wurde nur von einem Gärtner-Stamm, Sorbit von 2 Gärtner-, 2 Paratyphus B- und 2 Paratyphus C-Stämmen nicht vergoren. Dulzit wurde nur in einzelnen Fällen angegriffen. Dagegen ergaben sich bezüglich der Arabinose- und Rhamnose-Vergärung erhebliche charakteristische Unterschiede: Während die Gärtner-Stämme in diesen beiden höheren Alkoholen nur selten — in Arabinose 1mal, in Rhamnose 2mal — Gas bildeten, war dies bei den Paratyphus B-Stämmen gegenüber Arabinose die Regel und gegenüber Rhamnose nur bei einem Stamme nicht der Fall. Alle Stämme also, die in Arabinose und Rhamnose Gas bildeten, gehörten zur Paratyphus B-Gruppe, alle diejenigen, die sich diesen Nährmedien gegenüber gleichzeitig indifferent erwiesen, zur Gärtner- und einmal auch zur C-Gruppe. Dazwischen stehen einige Stämme, die Uebergänge zwischen den beiden Hauptgruppen bilden, oder der Paratyphus C-Gruppe angehören.

Weitere Untersuchungen an einer größeren Anzahl von Stämmen müssen ergeben, ob sich vielleicht durch dieses eigentümliche Verhalten zu Arabinose und Rhamnose eine konstante, sichere, kulturelle Differenzierung der Gärtner- und Paratyphus B-Stämme erzielen läßt.

Ferner zeigen die Tabellen, daß sich, ähnlich wie bei den Coli-Untergruppen, bestimmte Typen aufstellen lassen, was für eine Unterscheidung vieler Stämme von Wichtigkeit ist. Bei den Gärtner-Stämmen ergeben sich so 6 Typen:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

a) Typeneinteilung der Gärtnerstämme.

Stämme	Dextrose	Laktose	Saccharose	Maltose	Sorbit	Arabinose	Rhamnose	Dulzit	Adonit	Gärtner-Typ
7, 8, 18, 53	+	—	—	+	+	—	—	—	—	I
3, 9, 35	+	—	—	+	+	—	—	+	—	II
26, 51	+	—	—	+	+	+	—	—	—	III
19, 23	+	—	—	+	—	—	—	—	—	IV
29	+	—	—	+	+	—	+	+	—	V
54	+	—	—	—	+	—	—	—	—	VI

Die Paratyphus B-Stämme lassen sich in 4 Typen einteilen:

b) Typeneinteilung der Paratyphus B-Stämme.

Stämme	Dextrose	Laktose	Saccharose	Maltose	Sorbit	Arabinose	Rhamnose	Dulzit	Adonit	Para B-Typ
4, 45	+	—	—	+	+	+	+	+	—	I
25, 5	+	—	—	+	+	+	+	—	—	II
27, 15	+	—	—	+	—	+	+	—	—	III
22	+	—	—	+	+	+	—	—	—	IV

Bei den 5 Paratyphus C-Stämmen ergab sich, daß nicht 2 Stämme bezüglich ihrer Gasbildung übereinstimmten. Es stellt also jeder der Stämme 30, 37, 38, 40 und 41 einen eigenen Typ dar (vgl. oben Tabelle c).

Ebenso wie bei den Coli-Stämmen ist auch die Prüfung von Paratyphus-Stämmen auf ihr biochemisches Verhalten gegenüber verschiedenen Sacchariden und höheren Alkoholen von Wichtigkeit für die Erkennung atypischer Stämme. Dies beweist der Umstand, daß es mir mit Hilfe dieses Verfahrens gelang, 2 Stämme aufzufinden, die eine ganz besondere Stellung innerhalb der Coli-Typhusgruppe einnehmen und denen der folgende Abschnitt gilt.

II. Atypische bzw. typhoide Stämme.

Bei meinen Untersuchungen fand ich 2 aus den Lungen von an septischer Pneumonie eingegangenen Kälbern herausgezüchtete Stämme, die sich allen benutzten Zuckerarten gegenüber andauernd indifferent verhielten. Insbesondere wurde auch in Dextrose, die von allen übrigen Paratyphusstämmen vergoren wurde, von ihnen kein Gas gebildet. Durch lange fortgesetztes Umstechen auf Dextrosebouillon sowie durch 14-tägiges Halten in diesem Nährmedium wurde stets vergeblich versucht, eine Gewöhnung an Dextrose zu erreichen, so daß anzunehmen ist, daß es sich um eine konstante Eigenschaft der beiden Stämme, die ich nach den Institutsprotokollen mit No. 2 und 11 bezeichne, handelt. Auch nach Tierpassagen verblieb beiden Stämmen diese eigentümliche Eigenschaft: Aus weißen Mäusen, die mit 0,1 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur intraperitoneal infiziert wurden, und die schon nach 12—18 Stunden eingingen, ließen sich immer paratyphusähnliche Bakterien herauszüchten, denen aber ein Charakteristikum dieser Gruppe, die Gasbildungsfähigkeit in Dextrose, fehlte. Es handelte sich demnach um Stämme, die in ihrem Verhalten zu Sacchariden und höheren Alkoholen die Antipoden der fast alles vergärenden Coli A-Gruppe innerhalb der Coli-Typhusgruppe darstellten, indem ihnen bereits ein wichtiges Artmerkmal des

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Eberth-Gaffkyschen Typhusbacillus, das Fehlen der Gasbildung in Dextrose, zukam.

Auch Jensen fand bei Kälbern in seltenen Fällen Paratyphusbacillen, denen das Vermögen, Gas zu entwickeln, fehlte. Ferner beschreiben Wagner und Oethe Paratyphusbacillen und Bradley Gärtner-Stämme ohne Gasbildungsfähigkeit. Ueber einen Paratyphusbacillus, dessen Gasbildungsvermögen allmählich verloren ging, berichten Loewenthal und Seligmann. Horn und Huber fanden im Darm gesunder Tiere unter anderen auch paratyphus B-ähnliche Bakterien, die aus Dextrose kein Gas bildeten, ferner paratyphus A- und typhusähnliche.

Es erschien mir nun von Wichtigkeit, eine genaue Untersuchung über die kulturellen Eigenschaften beider Stämme mit besonderer Berücksichtigung der für die Typhus-Differentialdiagnose in Betracht kommenden Methoden anzustellen.

Beide Stämme waren gut beweglich, entfärbten sich nach Gram und waren morphologisch von den übrigen Bakterien der Coli-Typhusgruppe nicht zu unterscheiden. Der Indolnachweis nach Ehrlich war negativ. Lackmusmolke war nach 24 Stunden fast klar und nur schwach gerötet. Die gebildete Säure betrug weniger als 0,3 Proz., nach Zusatz von 1 Teil $^1/_{100}$ Normalnatronlauge zu 3 Teilen 24-stündiger Lackmusmolkekultur ergab sich ein blauer Farbenton, bei den zur Kontrolle mitgeprüften Coli- und Paratyphusstämmen ein roter. Milch wurde nicht zur Gerinnung gebracht; sie wurde nach 14 Tagen gelblich und fast klar und bildete einen dicken Bodensatz, in dem sich beide Stämme noch nach 4 Wochen als voll wachstumsfähig erwiesen. Neutralrotagar war nach 3 Tagen noch unverändert, während 2 Paratyphusstämme von typischer Beschaffenheit Gelbfärbung und Gasbildung nach 24 Stunden bewirkten. Neutralrotbouillon war nach 24 Stunden rot, während im Coli-Röhrchen Gelbfärbung eintrat. Auf Malachitgrünagar entstanden 1—3 mm große, hellgrüne Kolonieen, die den Nährboden entfärbten, auf der Conradi-Drigalski-Platte blaue Kolonieen mit leicht gezähntem Rand.

Es ergab sich somit, daß für beide aufgefundenen Stämme, die von Kutscher im allgemeinen verlangten Merkmale für Typhus zutrafen, d. h. Beweglichkeit, Entfärbung nach Gram, Fehlen der Indolbildung, Bildung von weniger als 0,3 Proz. Normalsäure in Lackmusmolke, fehlende Milchgerinnung, keine Bildung von Gas oder Fluoreszenz in Neutralrotagar.

Demnach muß angenommen werden, daß bei ruhr- und pneumoniekranken Kälbern Bacillen vorkommen, die alle charakteristischen Merkmale von Typhusbacillen zeigen. Ebensolche sind von Uhlenhuth und Hübener aus Organen schweinepestkranker Schweine isoliert worden; sie scheinen auch mit dem von Glässer beschriebenen Bac. typhi suis und dem von Dammann gefundenen Bac. suipestifer Voldagsen identisch zu sein. Da nun die von den genannten Autoren bei Schweinen gefundenen typhoiden Stämme durch Typhusserum nicht agglutiniert wurden und sich so leicht vom echten Typhusbacillus unterscheiden ließen, prüfte auch ich das agglutinatorische Verhalten der beiden Stämme 2 und 11 gegenüber einem Typhusserum und je 2 Gärtner- und Paratyphus B-Seren. Das Typhusserum war im Handel von den Sächsischen Serumwerken Dresden bezogen (SS), 2 der letzteren

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

verdanke ich Herrn Prof. Jensen in Kopenhagen (J) und 2 ebensolche waren im eigenen Institut von Kaninchen hergestellt worden (L).

Zur Technik der Agglutination bemerke ich noch, daß das makroskopische Verfahren angewendet und nach etwa 18-stündigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur abgelesen wurde. Das Antigen wurde durch Aufschwemmen 24-stündiger Agarkulturen in physiologischer Kochsalzlösung gewonnen, die Serumverdünnungen im Verhältnis 1 : 12,5, 25, 50, 100, 200, 400 usw. bis zur Titergrenze des Serums hergestellt.

Das Ergebnis ist in der nachfolgenden Tabelle niedergelegt:

Agglutination der beiden typhoiden Stämme 2 und 11.

Stamm	Typhus-Serum SS Titer 10 000	Gärtner-Serum J Titer 5000	Paratyph. B-Serum J Titer 5000	Gärtner-Serum L Titer 5000	Paratyph. B-Serum L Titer 5000	Normalserum
2	1 : 1600	1 : 400	1 : 100	1 : 800	1 : 100	1 : 12,5
11	1 : 3200	1 : 800	1 : 200	1 : 800	—	1 : 25

Es ergab sich die zunächst überraschende Tatsache, daß beide Stämme bei weitem am höchsten — wenn auch im Verhältnis zu dem hohen Titer nur in mittlerem Grade — vom Typhusserum, etwas schwächer von den Gärtner-Seren und sehr wenig von den Paratyphus B-Seren beeinflußt wurden. Wenn nun auch der Schluß nahe liegt, die Identität der beiden Stämme mit dem Typhusbacillus anzunehmen, so sprechen doch mehrere Umstände gegen diese Annahme. Zunächst sind die bei Menschen durch den Eberth-Gaffkyschen Bacillus hervorgerufenen Krankheitserscheinungen ganz anderer Natur (Stamm 2 und 11 sind aus typischen Pneumoniekälbern gezüchtet). Weiter sind die für das Typhusserum gefundenen Werte von 1600 und 3200 im Verhältnis zu dem sehr hohen Titer dieses Serums (10000) kaum als höher anzunehmer, als der für die nur halb so wirksamen Gärtner-Seren gefundene Durchschnittswert von 800. Schließlich ist es eine bekannte Tatsache, daß Paratyphus- und Gärtner-Stämme vom Typhusserum mitagglutiniert werden. So berichtet Haendel, daß Paratyphusbacillen mit typhusähnlicher Mutation in hohem Grade von Typhusserum mitagglutiniert wurden. Ebenso fand Schultz häufig Mitagglutination von Typhus- und Paratyphusbacillen. Dieser Autor kommt zu dem Schlusse, daß in manchen Fällen die Wahrscheinlichkeitsentscheidung für Typhus- oder Paratyphusinfektion allein auf Grund einmaliger Agglutination nicht möglich sei. Ausführliche Untersuchungen über diesen Gegenstand liegen vor von Kutscher und Meinicke, die Mitagglutination von Paratyphus B-Stämmen durch Typhusserum bis 1 : 500, von Enteritisstämmen bis 1 : 2000, und zwar auch von sonst schwer agglutinablen Stämmen, beobachteten. Kutscher und Meinicke bezeichnen diese hohe Mitagglutination als einen geradezu konstanten Befund, und behaupten, daß eine Gruppe von Enteritisbacillen durch die Agglutination allein nicht sicher von allen Typhusbacillen zu trennen ist. Daher komme ich zu dem Schlusse, daß die Agglutination der beiden Stämme durch Typhusserum als Mitagglutination im Sinne von Kutscher und Meinicke aufzufassen ist, und daß es sich um typhoide Gärtner-Stämme handelt, die sich durch ihr dem Typhusbacillus entsprechendes kulturelles Verhalten und die Fähigkeit, von Typhusserum in hohem Grade mitagglutiniert zu werden, auszeichnen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Eine Prüfung der beiden Stämme mit mehreren anderen Typhusseren als dem angewandten und der Versuch, mit ihnen agglutinierende Seren herzustellen und diese an echten Typhusstämmen zu prüfen, mußte leider unterlassen werden, da die Zeitverhältnisse eine Unterbrechung in der Beschäftigung mit diesem Thema erforderlich machten. Doch sollen die Untersuchungen später wieder aufgenommen werden.

Zusammenfassend komme ich zu folgenden Schlußfolgerungen:

Bei ruhr- und pneumoniekranken Kälbern finden sich unter den der Typhus-Coli-Gruppe angehörenden Bakterien alle möglichen Zwischenformen und Uebergänge zwischen den beiden Extremen. Diese werden einerseits von der Coli A-Gruppe, anderseits von Bakterien gebildet, die kulturell vom Typhusbacillus nicht unterschieden werden können und ihm auch serologisch sehr nahe stehen (typhoide Gärtner-Stämme).

Die Prüfung des Gasbildungsvermögens in verschiedenen Saccharide und höheren Alkoholen ist für die Gruppeneinteilung der genannten Bakterien, sowie für die Identifizierung einzelner Typen innerhalb dieser Gruppen, schließlich auch für die Erkennung atypischer Stämme von großer Wichtigkeit.

Nach ihrer biochemischen Aktivität ergibt sich für die untersuchten Stämme folgende Stufenleiter:

Bakterienstämme	Dextrose	Laktose	Saccharose	Arabinose	Rhamnose
Coli A	+	+	+	+	+ (−)
Coli B	+	+	—	+	±
Paratyphus B	+	—	—	+	+ (−)
Paratyphus C	+	—	—	±	±
Gärtner	+	—	—	— (+)	— (+)
Coli C und typhoide Gärtner-Stämme	—	—	—	—	—

Von den untersuchten Coli-Stämmen gehörten 80 Proz. der Saccharose nicht vergärenden Coli B- und 19 Proz. der Saccharose vergärenden Coli A-Gruppe an, während ein Stamm — von mir als Coli C bezeichnet — in keiner Zuckerart Gas bildete.

Bei den Gärtner-, Paratyphus B- und C-Stämmen lassen sich, ebenso wie bei den Coli-Untergruppen, bestimmte Typen nach ihrem verschiedenen Gasbildungsvermögen aufstellen.

Die untersuchten Paratyphus B- ließen sich von den Gärtner-Stämmen dadurch kulturell unterscheiden, daß sie stets in Arabinose, fast immer auch in Rhamnose Gas bildeten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Quellenangabe.

1) Jensen, C. O., Kälberruhr. (Kolle-Wassermann, Handbuch d. pathog. Mikroorg. Bd. 6. 1913. p. 121.)
2) —, Ueber Kälberruhr und deren Aetiologie. (Monatsschr. f. prakt. Tierheilk. Bd. 4. 1892. p. 761.)
3) Poels, Rapport over de kalverziekte in Nederland. 's Gravenhage 1899.
4) Jensen, Impfungen gegen Kälberkrankheiten. (Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 9. 1905. p. 1 u. 2.)
5) Titze u. Weichel, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh.-Amt. Bd. 33. 1910.)
6) Schmitt, D., Bac. paratyphi B als Krankheitserreger bei Kälbern. (Deutsch. tierärztl. Wochenschr. 1908. p. 47 u. 48.)
7) —, Klinische und bakteriologische Untersuchung einiger vom seuchenhaften Kälbersterben befallener Bestände. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 5. p. 5.)
8) Thomassen, Annal. de. l'Instit. Pasteur. 1897.
9) Poels, Zeitschr f. Fleischhyg. Bd. 15. 1905. p. 278.
10) Schreiber, Die Bekämpfung der Kälberruhr und Kälberpneumonie. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1910. No. 49.)
11) —, Die septische Pneumonie der Kälber. (Monatsh. f. prakt. Tierheilkunde. Bd. 18. 1907. p. 299.)
12) —, Die Bekämpfung der weißen Ruhr und septischen Pneumonie der Kälber durch aktive Immunisierung der Kühe. (Deutsch. tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 17. p. 253.)
13) Uhlenhuth u. Hübener, Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. 3. 1913. p. 1005.
14) Langkau, Bac. paratyphi, Bac. suipestifer und Bac. enteritidis im Vergleich zu den Erregern der Kälberruhr. [Inaug.-Diss.] Leipzig 1909.
15) Schmitt, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 43. p. 730.
16) Savage, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 53. p. 463.
17) Schern, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 47. p. 27.
18) Conradi u. Bierast, Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. 6. 1913. p. 483.
19) Neumann, Beitrag zur Biologie des Erregers der Kälberruhr-Colibacillosis. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46.)
20) Schmitt, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 18. p. 1.
21) Keyes u. Gillespie, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57. p. 219.
22) Schmidt, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 53. p. 464.
23) Jackson, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 50. p. 276.
24) Stokes, Royal u. Stoner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 46. p. 248.
25) Keyes, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 45. p. 148.
26) Conkey, M., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 44. p. 293.
27) Park, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 37. p. 229.
28) Conkey, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 40. p. 508.
29) Sauerbeck, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. p. 572.
30) Natonek, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 58. p. 94.
31) Hennigson, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 59. p. 272.
32) Klein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57. p. 48.
33) Baerthlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. p. 21.
34) —, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh.-Amt. Bd. 40. p. 433.
35) Revis, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 54. p. 298.
36) Seiffert, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 63. p. 273.
37) Hübener, Fleischvergiftungen und Paratyphusinfektionen. Jena (Fischer) 1910.
38) Bahr, Raebiger, Grohso, Zeitschr. f. Infektionskr. 1909. p. 295.
39) Chistiansen, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 58. p. 91.
40) Wagner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 60. p. 220.
41) Bradley, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 58. p. 430.
42) Loewenthal u. Seigmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 58. p. 91.
43) Oethe, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 58. p. 693.
44) Horn u. Huber, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 61. p. 452.
45) Kutscher, Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. 3. p. 717.
46) Fornet, Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. 3. p. 837.
47) Haendel, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 55. p. 113.
48) Schultz, Deutsch. med. Wochenschr. 1909. p. 568.
49) Kutscher u. Meinicke, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 52. p. 301.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber einen Befund in der Warze (Verruca Porro).

[Hygienisches Institut der Kgl. Universität zu Turin
(Leiter: Prof. Dr. L. Pagliani).]

Von Dr. **Giuseppe Sangiorgi,** Privatdozenten und Assistenten.

Mit 1 Tafel.

Das Molluscum contagiosum des Menschen ist heute, besonders dank der Arbeiten von Juliusberg (1905), Lipschütz (1907—08), Leber (1912) eine der am besten gekannten, durch filtrierbares Virus erzeugten Krankheiten. Dasselbe läßt sich aber nicht sagen von einer anderen Hautkrankheit, die ebenfalls auf ein durch die Poren der Berkefeld-Kerzen hindurchlaufendes Virus zurückgeführt werden kann, nämlich die „Verruca Porro".

Es ist bekannt, daß das Molluscum contagiosum nach der Ansicht Prowazeks, Lipschütz' und vieler anderen Forscher eine Chlamydozoen-Strongyloplasmosis ist, d. h. eine von jenen durch filtrierbares Virus ausgelösten Krankheiten, die zu der Gruppe (Lipschütz) gehören, die durch das Vorhandensein als spezifischer Reaktionsprodukte der Zelle gegen das Virus gedeuteter besonderer Gebilde (Einschlüsse) nur durch die Gegenwart eigenartiger, äußerst kleiner, nach dem Loefflerschen Verfahren gut färbbarer, morphologisch das Virus darstellender Körperchen („Elementarkörperchen" nach Prowazek und „Strongyloplasmen" nach Lipschütz) gekennzeichnet ist.

Nachdem erst einmal dank der Nachforschungen Ciuffo's (1907) das Wesen des Virus der Warze bekannt geworden und damit die Verwandtschaft zwischen dieser Krankheit und dem Molluscum contagiosum näher gerückt worden war, mußte es vom mikrobiologischen Standpunkt aus wünschenswert erscheinen, zu erfahren, ob nicht im Verfolg dieser neuen Gesichtspunkte eine neue Tatsache ausfindig gemacht werden könnte, durch die auch bei der Warze der Begriff der Chlamydozoen-Strongyloplasmose einen festeren Grund zu erhalten vermochte.

Schon seit geraumer Zeit habe ich in dieser Richtung Versuche angestellt. Ist nun auch heute das Ergebnis dieser Forschungen noch nicht imstande, die verschiedenen Seiten der von mir aufgeworfenen Frage zu klären, so erscheint es mir doch angebracht, nicht zu allerletzt in der Absicht, auch andere zum Studium dieser Frage anzuregen, die Aufmerksamkeit auf einen Befund zu lenken, der sich mir bei der Prüfung verschiedener Fälle typischer Warzen ergeben hat[1]). In den in Schaudinnscher Lösung fixierten und nach Mann gefärbten Warzenquerschnitten habe ich das Vorhandensein mit Eosin gut färbbarer Körperchen festgestellt, die meine Aufmerksamkeit besonderer, nachstehend kurz beschriebener Eigentümlichkeiten wegen gefesselt haben.

Diese Körperchen finden sich hauptsächlich in den Zellen der Oberhautkörnchenschicht vor und sind auch noch in den Zellen der obersten Lagen der Stachelschicht wahrnehmbar. Je weiter man in dieser Schicht

1) Meinem Kollegen, Herrn Privatdozenten Dr. A. Fontana von der Kgl. Dermosyphilopathischen Klinik der Turiner Universität, meinen besten Dank für das freundlichst mir zur Verfügung gestellte Material.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

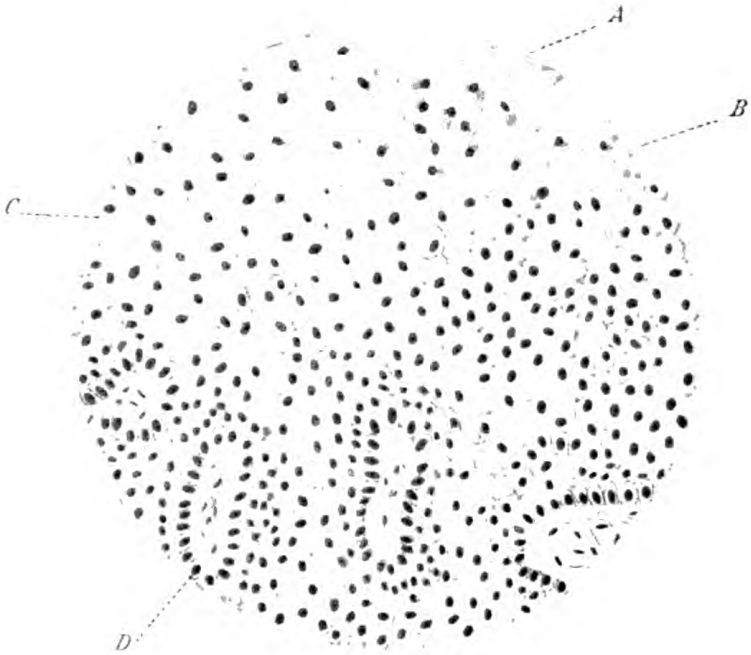
vordringt, desto seltener werden sie; vollständig fehlen sie dann in den am tiefsten liegenden Zellen der Stachelschicht und in der Grundschicht. Die diese Körperchen beherbergenden Zellelemente besitzen größtenteils ein sehr verändertes Aussehen. Es ist nämlich ihr Cytoplasma mehr oder weniger vollständig vakuolisiert und der Kern exzentrisch gelegen, zuweilen sogar geradezu an die Peripherie verschoben. In dem letzteren läßt sich das sich blau färbende Kernkörperchen erkennen. Die acidophilen Gebilde stechen ganz bedeutend von dem vakuolisierten Protoplasma ab (siehe die Tafel), und zwar als verschieden große, mehr oder weniger runde Massen mit deutlichen Umrissen. Die größten dieser Körperchen (Durchmesser im Durchschnitt 5—7 μ) weisen einen hellen, abgetönten Mittelpunkt und einen etwas stärker gefärbten Rand auf, liegen fast immer vereinzelt und sind gerade diejenigen, die ihrer Lagerung wegen den interessantesten Teil des Befundes ausmachen; sie zeigen sich nämlich dicht an den Kern hinangeschoben; auch kann gar nicht selten die Beobachtung gemacht werden, daß in solchen Fällen dem Rande des Kernes entlang eine Delle entsteht, in die das Körperchen zu liegen kommt. Die kleineren Körperchen (2—3,5 μ mittleren Durchmessers) besitzen gewöhnlich ein gleichmäßigeres Aussehen und sind bis zu 2, 3 und selbst 4 Exemplaren in derselben Zelle vorzufinden, wobei sie, wenn sie nicht geradezu mit dem Kern in Berührung kommen, zum mindesten ringsherum ganz nahe an ihn hinantreten und so den ganzen übrigen hellen Raum des Cytoplasmas freigeben. Niemals konnten sie innerhalb des Kernes festgestellt werden,

Was die Bedeutung dieser Körperchen anbetrifft, so huldige ich trotzdem bis heute ihr Nachweis in Ausstrich- und Klatschpräparaten noch aussteht, doch der Anschauung (und meine Ansicht deckt sich mit der Auffassung von Lipschütz, der meine Untersuchungen mit großem Interesse verfolgt hat), daß wir in ihrer eigenartigen Lagerung zum Kern der beherbergenden Zellen ein nicht unbedeutendes Element besitzen, das uns in den Stand setzt, auf Vergleichswegen zu den bekannten Befunden der „Zelleinschlüsse“ zu gelangen, die jene besondere Gruppe der durch filtrierbares Virus hervorgerufenen Krankheiten kennzeichnen, in bezug auf welche sich nach und nach die Theorie der Chlamydozoen ausgebildet und gekräftigt hat, und ihnen ferner die Bedeutung von Zelleinschlüssen im Sinne der Verfechter dieser Theorie beizulegen.

Mit anderen Worten gesagt, hätten wir also auch bei der Warze in der bestimmten Gruppe von Zellelementen, die die direkte Einwirkung des Virus ganz besonders verspürt (das Virus der Warze übt seinen Einfluß ebenso wie das Virus des Molluscum contagiosum direkt auf die Epidermis aus, wonach Lipschütz sie also mit Recht in der Untergruppe der „lokalisierten, epidermalen Vira“ zusammen unterbringt), das Vorhandensein besonderer Körperchen, die als Erzeugnisse der Reaktion der vom Virus getroffenen Zellen aufgefaßt werden. Ueber ihre Entstehung läßt sich wohl am ehesten annehmen, daß die Zelle auf die Einwirkung des Virus zuerst mit der Bildung mehrerer kleinerer Körperchen antwortet, die später miteinander verschmelzen und ein einziges ausmachen, das gerade dasjenige ist, welches das endgültige Bild eines wirklichen Einschlusses annimmt. Diese Körper werden ebenfalls mit Hämatoxylin-Eosin, mit Heidenhainschem Eisenhämatoxylin, nach dem Giemsaschen, Pappenheimschen und Stutzerschen Verfahren deutlich erkannt, doch gelang es mir mit keiner dieser Methoden, selbst bei den größten dieser Körper, eine besondere Struktur aufzufinden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN



Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. A. Sütsch Jena

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Andererseits kann aus dem diesen mikrochemischen Reaktionen gegenüber bewiesenen Verhalten auch geschlossen werden, daß die in Frage stehenden Körper keratinartig sind, wie die von Handerson und Peterson beim Molluscum contagiosum des Menschen festgestellten Körperchen [1]).

Nun fehlt ja immerhin noch, was vom mikrobiologischen Standpunkt aus sehr erwünscht wäre zur Vervollständigung meines Befundes und zur Stütze des Begriffes, auf den er hinausläuft, der morphologische Nachweis des Virus der Warze, der logischer Vergleichung zufolge auf den Begriff der Strongyloplasmen Lipschütz' zustreben muß. — Auch in diesem Sinne habe ich Untersuchungen angestellt, die aber bis heute noch zu keinem positiven Ergebnis geführt haben. Es kann aber auf jeden Fall nicht als ausgeschlossen gelten, daß eine gewisse Beharrlichkeit in der Ausführung der Versuche, sowie die zweckmäßige Auswahl von Warzen der verschiedensten Entwickelungsphasen doch schließlich zu dem gewünschten Erfolg führen wird. Wir hätten sodann neben der Filtrierbarkeit des Virus und dem Bestehen von Zelleinschlüssen ein drittes Element, das auch für die Warze die Berechtigung zur Annahme des Begriffes einer Chlamydozoen-Strongyloplasmose abgeben würde [2]).

1) Der Einwand, daß die Körperchen, denen ich meine Aufmerksamkeit geschenkt habe, weiter nichts seien, als keratohyaline Massen, ist nicht haltbar, wenn wir in Betracht ziehen, was uns heute über die Warze bekannt ist. Bei der Schwiele, bei der Haut der Handfläche und Fußsohle des Menschen und der Tiere (Kaninchen), bei denen ich angesichts der Fülle von Keratohyalin in der Kornschicht der Oberhaut von vornherein ein ähnliches Bild wie bei der Warze hätte erwarten sollen (ganz abgesehen davon, daß die von mir beschriebenen Körperchen, wie bereits erwähnt, auch in den äußersten Zellen der Stachelschicht wahrzunehmen sind), habe ich niemals einen Befund erhoben, der auch nur eine entfernte Aehnlichkeit mit dem gehabt hätte, den ich gewöhnlich in den Warzenschnitten festzustellen vermochte. Der Unterschied ist ganz außerordentlich. — Uebrigens erkennen meine Untersuchungen die keratinartige Natur dieser Körperchen an: sie verleihen im Lichte unserer neuen Kenntnisse dem eine wissenschaftliche Bedeutung, was vorher gewöhnlich als eine bedeutungslose Sache aufgefaßt worden war. — Durch wie viele mehr oder weniger sonderbare Auslegungen hindurch sind schließlich nicht auch die Körperchen des Molluscum contagiosum hindurchgezogen, bis sie endlich zu dem geworden sind, was sie heute nach der Ansicht der meisten Forscher sind?

2) Während meine Untersuchungen im Gange waren, ist in Pathologica. 1914. No. 125 eine Arbeit Fioris erschienen, in der Verf. die Aufmerksamkeit auf einen beim Spitzenkondylom festgestellten Befund von Zelleinschlüssen lenkt. Aus dem, was Fiori in seiner Arbeit darlegt, und dem, was ich bei Untersuchung von Schnitten zweier Spitzenkondylome habe nachprüfen können, bin ich zur Ansicht gekommen, daß der Befund Fioris keinerlei Berührungspunkte besitzt mit meinem Warzenbefund. Ich will mich hier keineswegs entschieden aussprechen über die Bedeutung der von Fiori beschriebenen „Einschlüsse", sondern lege mir für den Augenblick nur die Frage vor, ob sie nicht vielleicht Mitochondrien oder ihnen stark ähnelnde Bilder sein könnten.

Literatur.

Einen erschöpfenden Ueberblick über die Frage gibt die Arbeit Lipschütz', Ueber filtrierbare Infektionserreger in Kolle-Wassermanns Handbuch. Bd. 8. 2. Aufl. Jena (G. Fischer) 1913.

Erklärung der Tafel.

Koristka, Okul. 3, Obj. 5. — Querschnitt aus einer Warze. Fixierung in Sublimatalkohol nach Schaudinn. Färbung nach Mannscher Methode. *A* Stratum lucidum. *B* Stratum granulosum. *C* Stratum spinosum. *D* Papillen des Derma.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Beobachtungen über Culiciden.

[Hygienisch-parasitologisches Institut der Universität Lausanne.]

Von **B. Galli-Valerio.**

Meine Beobachtungen über Culiciden von Ende Oktober 1913 bis Ende Oktober 1914 kann ich wie folgt zusammenfassen:

a) Beobachtungen über die Ueberwinterung der Culiciden.

Von Ende Oktober bis Ende Dezember 1913 waren die Larven von Culiciden in der Orbeebene sehr zahlreich, nicht nur in den Pfützen, sondern auch in alten Kochgeschirren usw., die im Kehricht lagen. Ende November fanden sich sehr viele Culexlarven in Bodenvertiefungen, wo bis dahin kein Wasser war, wenn sie geringe Wasser enthielten, ausgekrochen. Einige von diesen Larven, die in das Laboratorium gebracht wurden, waren am 21. Dezember sehr groß geworden, während diejenigen, die in den mit Eis bedeckten Pfützen geblieben, noch sehr klein waren. Also hatte nicht die Ernährung, die eine bessere in den Pfützen als im Laboratorium war, sondern die Temperatur die Fortentwicklung der Larven begünstigt.

Am 22. Februar 1914 fand ich im Walde von Montcherand (Orbe) in Bodenvertiefungen, die noch am 8. Februar mit Schnee gefüllt waren, und Wasser enthielten, sehr zahlreiche Larven von Culex und von Corethra velutinus (Lufttemperatur + 2°, Wassertemperatur + 2°). In einigen kleinen Vertiefungen von 20 × 25 cm und einer Wasserschicht von 10 cm konnte ich jedesmal mit einem kleinen Siebe 25 Culex- und 17 Corethra-Larven fangen. In diesen Vertiefungen sind die ersten Puppen am 19. April erschienen (Lufttemp. + 3°, Wassertemp. + 4°).

Am 1. März 1914 enthielten Bodenvertiefungen, die den ganzen Winter ohne Wasser geblieben waren, und jetzt mit Wasser gefüllt waren, sehr zahlreiche Larven von A. bifurcatus, die eine Länge von 2—2½ mm hatten, und sehr wahrscheinlich aus Eiern, die in Blättern überwintert hatten, ausgekrochen waren. In den in der Nähe stehenden Pfützen zeigten die Larven von A. bifurcatus, die als Larven überwintert hatten, eine Länge von 4—5 mm. Auch Culex-Larven von 1 mm waren in diesen Vertiefungen sehr zahlreich.

Am 11. April erschienen die ersten Puppen von Culex in den Pfützen der Orbeebene.

Auch in Sondrio (Veltlin) haben sehr wahrscheinlich die Larven von Culex und A. bifurcatus überwintert: Am 26. März 1914 (Luft- und Wassertemperatur + 8°) habe ich in den Pfützen sehr zahlreiche, große Larven, die im Zimmer am 31. März Puppen und am 4. April Imagines gegeben haben, gefunden. In denselben Pfützen waren die Puppen von A. bifurcatus sehr zahlreich am 1. April (Lufttemperatur + 15°, Wassertemperatur + 17°).

Im Wasser einer kleinen Höhlung im Stamme einer Abies pectinata am Fuße des Juras (900 m)[1]) habe ich am 15. März 1914 Larven von A. nigripes gefunden. Diese Larven waren kleiner als die, die

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

am 27. September 1913 in derselben Höhlung gefunden worden waren. In etwas Wasser aus dieser Höhlung sind im Laboratorium Larven von C. ornata ausgekrochen. Die ersten Imagines von C. ornata und A. nigripes sind im Laboratorium am 30. April und 19. Mai erschienen.

Larven von A. maculipennis habe ich nur im Sommer gefunden; sie waren ziemlich häufig in der Sondrioebene.

Im Monat November 1913 waren die ♀ von C. pipiens sehr zahlreich in den Kellern von Orbe. Einige von diesen Imagines, die in eine Glaskiste mit etwas Wasser gelegt worden waren, sind nur bis Ende Dezember 1913 und den 5. Januar 1914 am Leben geblieben. Sie tranken oft etwas Wasser, und ich habe bemerkt, daß einige ♀ von C. pipiens, die im Laboratorium ganz frei waren, auch von Zeit zu Zeit an den Waschtisch gingen, um etwas Wasser zu nehmen. Ich habe auch bemerkt, daß die Imagines, die ganz frei in den Zimmern leben, besser überwintern als diejenigen, die in Glaskisten eingesperrt sind.

Ende September 1914 waren die ♀ von C. pipiens zahlreich in den Zimmern von Orbe, und Ende Oktober 1914 habe ich in einigen Zimmern von Lausanne, wo ich sie bis jetzt nie gefunden hatte, ♀ von Th. annulata gefunden.

b) Beobachtungen über die Biologie und die Brutplätze der Culiciden.

Pfützen der Sondrioebene, die mit Lemna palustris ganz bedeckt waren, beherbergten auch dieses Jahr keine Culicidenlarven, während in deren Nähe befindliche Abflußkanäle mit starkem Wachstum von Nasturtium officinale sehr reich an Larven von Culex und A. bifurcatus waren.

Also sind fließende Gewässer mit Wasserpflanzen für die Entwickelung der Culiciden gefährlicher, als die stehenden Gewässer, die mit Lemna bedeckt sind.

Die Larven und Puppen von Culex nemorosus, die in Alpenseen, die ganz frei von Wasserpflanzen sind, leben, haben schnellere Bewegungen als diejenigen, die in Pfützen mit Pflanzen leben. An den Ufern der Seen sinken sie plötzlich und sehr schnell, um sich im Schlamme zu verbergen, so daß es oft sehr schwierig ist, sie zu fangen.

Mit Rochaz hatte ich schon bemerkt[2]), daß Larven von A. nigripes sehr lange Zeit leben konnten, ohne sich zu verpuppen. Dieses Jahr ist eine von diesen Larven am 27. September gefunden worden, die erst am 10. Juni 1914 zugrunde gegangen ist.

Lausanne, 1. März 1915.

---

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 72. 1914. p. 529.
2) Ibid. B. 67. 1913. p. 472.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber die Bedeutung der Virulenz und morphologischer Bestandteile der Bakterien für die Immunisierung und über die immunisierende Wirkung autolysierter Kulturen [1]).

[Aus der mediz. Klinik Erlangen (Direktor: Geh. Hofrat Penzoldt).]

Von Dr. **Erich Toenniessen.**

Es ist bekannt, daß gegen manche pathogene Bakterien, insbesondere gegen die Septikämieerreger, eine wirksame Immunität nur erzielt werden kann, wenn zur Immunisierung virulente Stämme verwendet werden. So ist z. B. die Schutzimpfung mit Streptokokken, Pneumokokken, Pestbacillen nur dann von Erfolg, wenn virulente Kulturen injiziert werden, und zwar haben virulente, abgetötete Kulturen eine bessere Wirkung als avirulente, lebende. Doch sind diese Beobachtungen nicht beweisend dafür, daß allein die Virulenz für den immunisatorischen Erfolg ausschlaggebend ist; denn die Wirkungslosigkeit der avirulenten Stämme kann auch dadurch bedingt sein, daß sich diese von den virulenten nicht nur hinsichtlich ihrer Virulenz, sondern auch hinsichtlich anderer, in der Konstitution des Bakterienprotoplasmas begründeter Eigenschaften, deren Summe die spezifische Wirkung ausübt, unterscheiden. Es war infolgedessen von Interesse, zu untersuchen, ob man durch experimentell zu gewinnende, fast avirulente Varianten eines sehr pathogenen Bakterienstammes eine Immunität gegen den virulenten Typus erzielen kann, und die immunisierende Wirkung der avirulenten Varianten mit der des Typus zu vergleichen. In früheren Arbeiten [2]) habe ich schon erwähnt, daß man vom Friedländerschen Pneumoniebacillus durch die einfachen Methoden der künstlichen Kultivierung Varianten gewinnen kann, die sich in ihrer Virulenz wesentlich vom Ausgangsstamm, dem „Typus", unterscheiden. Die Aenderungen der Virulenz entsprechen stets bestimmten Aenderungen des morphologischen Aufbaues der Bacillen, und zwar gehen zugleich mit der Verminderung der Virulenz bestimmte morphologische Bestandteile verloren. Infolgedessen beschäftigen sich die vorliegenden Versuche auch mit der Frage, welche Bedeutung gewissen Bestandteilen der Bakterienzelle für die Immunisierung zukommt.

Die grobmorphologische Zusammensetzung des Typus und der Varianten sei kurz vorausgeschickt [eine etwas ausführlichere Uebersicht mit Skizze findet sich in meiner Mitteilung über die Agglutination der Kapselbacillen [3])].

Der normale Bacillus (= Typus) zeigt 3 morphologisch unterscheidbare Partialantigene: ein bei der Färbung als breites Stäbchen erscheinendes Endoplasma, ein breites, als nicht färbbare Zellmembran erscheinendes Ektoplasma und eine sehr breite, durch Methylenblau

1) Diese Arbeit schließt sich an Versuche an, über die ich schon am 16. Dezember 1913 im Aerztlichen Bezirksverein Erlangen berichtet habe (ref. in der München. med. Wochenschr.). Die Versuche waren schon vor Ausbruch des Krieges abgeschlossen, die Publikation verzögerte sich jedoch aus äußeren Ursachen bis jetzt.

2) Vgl. insbesondere Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. p. 330.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

metachromatisch färbbare Schleimhülle. Die Virulenz ist für die Maus eine sehr hohe: 0,0000000001 ccm der 24-stündigen Bouillonkultur tötet die Maus in 24—48 Stunden (intraperitoneal oder subkutan injiziert). Die Virulenz für das Meerschweinchen ist bedeutend geringer; die Dosis let. min. ist bei intraperitonealer Injektion 0,001 ccm Bouillonkultur.

Die Fluktuante (es wurde von den 3 Fluktuanten die extrem abweichende, in der in Anm. 2 p. 262 genannten Arbeit als Fluktuante III bezeichnete verwendet) unterscheidet sich vom Typus morphologisch nur durch das völlige Fehlen der Schleimhülle, besteht also aus Endoplasma mit breitem Ektoplasma. Die Virulenz ist gegen den Typus bedeutend herabgesetzt. Die sichere Dosis letalis min. für die Maus ist 0,5 ccm Bouillonkultur (intraperitoneal), die Virulenz für das Meerschweinchen = 0.

Die Mutante besitzt ein als sehr schlankes Stäbchen geformtes Endoplasma und eine sehr schmale, kaum bemerkbare Schicht Ektoplasma. Die Schleimhülle fehlt. Die Virulenz ist noch geringer als die der extremen Fluktuante; die Dosis letalis min. für die Maus ist 1,0 ccm Bouillonkultur, die Virulenz für das Meerschweinchen = 0.

Die geschilderten Veränderungen der Morphologie und der Virulenz sind bei den üblichen Methoden der künstlichen Kultivierung vollkommen konstant. Man hat also bei der Immunisierung stets gleichwertiges Material zur Verfügung.

Die Versuche wurden an Meerschweinchen und Mäusen ausgeführt. Die Tiere wurden mit intraperitonealen Injektionen abgetöteter Bacillen (nur die avirulenten Varianten wurden in einer Versuchsreihe lebend injiziert) behandelt. Die Injektionen wurden in 7-tägigen Zwischenräumen vorgenommen, in den meisten Versuchen 3mal, in einer Serie 6mal wiederholt. Die Infektion mit lebendem Material erfolgte 8—12 Tage nach der letzten Schutzimpfung. Daß die Tiere der Infektion erlagen, wurde durch bakteriologische Sektion geprüft.

Zur Gewinnung des Impfstoffes wurden 24-stündige Agarkulturen verwendet. Der Bakterienrasen wurde in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung bis zur homogenen Suspension aufgeschwemmt, die Abtötung geschah durch 1-stündiges Erhitzen auf 65° (niedrigere Temperaturen töteten nicht alle Bacillen ab). Von den abgetöteten Aufschwemmungen wurden, nachdem sie als steril befunden waren, die bei den Tabellen bezeichneten Mengen zur Schutzimpfung verwendet. Bei einem Teil der Versuche (I, II, III, IV, VI, VII, VIII, IX, X, XI) wurde der Impfstoff für jede Injektion frisch bereitet, bei einem anderen Teil (V, XII) wurde er nach der Sterilisation in Glasröhrchen unter Zuschmelzung aufgehoben und auch für die späteren Impfungen verwendet. Nie wurde dem Impfstoff ein Antiseptikum zugesetzt.

Die Infektion geschah durch 24-stündige Bouillonkulturen des hochvirulenten Typus, die Dosierung wurde durch fallende (1 : 10) Verdünnungen erreicht. Die in den Tabellen angegebene Dosis wurde intraperitoneal bzw. subkutan injiziert. Die Beobachtung nach der Infektion wurde auf 10 Tage ausgedehnt, da sich herausstellte, daß die Tiere nie später als 10 Tage nach der Infektion, meist viel früher der Infektion erliegen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aktive Immunisierung.

Meerschweinchen.

Versuch I. Die Tiere erhielten 3 Injektionen von abgetöteten Bacillen des Typus und der Varianten (jedesmal 0,3 ccm, Impfstoff für jede Injektion frisch bereitet) und wurden 12 Tage nach der letzten Injektion mit lebenden Bacillen des Typus intraperitoneal infiziert. — bedeutet: überlebt die Infektion.

Impfstoff	Infektion		Resultat
Typus	0,1	intraperitoneal	tot nach 24 Stunden
„	0,01	„	—
„	0,001	„	tot nach 25 Stunden
Fluktuante	0,1	intraperitoneal	tot nach 24 Stunden
„	0,01	„	„ „ 40 „
„	0,001	„	—
Mutante	0,1	intraperitoneal	tot nach 30 Stunden
„	0,01	„	„ „ 40 „
„	0,001	„	—
Kontrollen	0,01	intraperitoneal	tot nach 32 Stunden
„	0,001	„	—

Versuch II. 6 Injektionen mit abgetöteten Bacillen (0,3 ccm, Impfstoff stets frisch bereitet), Infektion 8 Tage nach der 6. Injektion.

Impfstoff	Infektion		Resultat
Typus	0,1	intraperitoneal	tot nach 6 Tagen (Blut +)
„	0,01	„	—
„	0,1	subkutan	—
Fluktuante	0,1	intraperitoneal	—
„	0,01	„	—
„	0.1	subkutan	—
Mutante	0,1	intraperitoneal	tot nach 33 Stunden
„	0,01	„	—
„	0,1	subkutan	—
Kontrollen	0,01	intraperitoneal	tot nach 31 Stunden
„	0,1	subkutan	—

Die aktive Immunisierung der Meerschweinchen zeigt also nach 3 Injektionen keine deutliche, nach 6 Injektionen eine deutliche, wenn auch nur geringe Schutzwirkung der 3 Antigene. Eine besonders überlegene Wirksamkeit irgendeines der Antigene war nicht zu beobachten; die Fluktuante schien etwas besser als die anderen Antigene zu immunisieren.

Mäuse.

Versuch III. 3 intraperitoneale Injektionen (0,05 ccm, Impfstoff für jede Injektion frisch bereitet), 12 Tage nach der 3. Injektion lebende Bacillen.

Impfstoff	Infektion		Resultat
Typus	0,0001	intraperitoneal	tot nach 40 Stunden
„	0,00001	„	—
„	0,000001	„	tot nach 48 Stunden
„	0,0001	subkutan	tot nach 96 Stunden
„	0,00001	„	„ „ 10 Tagen (Blut +)
„	0,000001	„	—
Fluktuante	0,0001	intraperitoneal	—
„	0,00001	„	tot nach 40 Stunden
„	0,000001	„	—
„	0,0001	subkutan	tot nach 5 Tagen (Blut +)
„	0,00001	„	—
„	0,000001	„	—

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Impfstoff	Infektion		Resultat
Mutante	0,0001	intraperitoneal	tot nach 22 Stunden
„	0,00001	„	„ „ 24 „
„	0,000001	„	„ „ 24 „
„	0,0001	subkutan	tot nach 40 Stunden
„	fehlt (Impfverlust)		
„	0,000001	subkutan	—
Kontrollen	0,000001	intraperitoneal	tot nach 26 Stunden
„	0,000001	subkutan	„ „ 40 „

In diesem Versuche zeigt die Fluktuante die beste, die Mutante die geringste Schutzwirkung.

Versuch IV. Soll nur mitgeteilt werden, weil bei diesem Versuch lebende Kulturen der (wenig virulenten) Varianten verwendet wurden. Es wurden 3 Injektionen (0,05 ccm Bouillonkultur) ausgeführt, 9 Tage nachher Injektion mit virulentem Typus.

Impfstoff	Infektion		Resultat
Fluktuante	2 Mäuse nach 1. Impfung trotz kleiner Dosis (0,05) eingegangen		
„			
„	0,001	intraperitoneal	tot nach 3 Tagen
Mutante	0,001	intraperitoneal	tot nach 21 Stunden
„	0,0001	„	„ „ 23 „
„	0,00001	„	„ „ 30 „

Zugleich weiterer Versuch mit Typus, Impfstoff für jede Injektion frisch bereitet.

Impfstoff	Infektion		Resultat
Typus (abgetötet)	0,001	intraperitoneal	—
„ „	0,0001	„	—
„ „	0,00001	„	—
„ „	0,001	subkutan	—
„ „	0,0001	„	—
„ „	0,00001	„	tot nach 4 Tagen (Blut +)
Kontrolle	0,000001	intraperitoneal	tot nach 48 Stunden
„	0,000001	subkutan	„ „ 30 „

Dieser Versuch zeigt, daß die Immunisierung mit lebenden Kulturen der avirulenten Varianten keinen besseren Schutz erzielt als das abgetötete Antigen, ja daß sogar Impfverluste durch verhältnismäßig niedrige Dosen vorkommen können.

Die Impfung mit dem virulenten, abgetöteten Typus zeigt in diesem Versuch bessere Wirkung als im Versuch III.

Versuch V. 3 Injektionen mit abgetöteten Agarkulturen (Impfstoff nach Sterilisation in Glasröhrchen abgefüllt und zugeschmolzen, also nicht jedesmal frisch bereitet, erste Injektion 0,025, zweite 0,05, dritte 0,05), 12 Tage danach Infektion.

Da auf die erste Infektion verhältnismäßig wenig Tiere starben, wurden die Tiere nach 3 Tagen jedes mit der 10-fach höheren Dosis nochmals infiziert, und zwar die intraperitoneal infizierten jetzt subkutan und umgekehrt.

Impfstoff	1. Infektion		Resultat nach 3 Tagen	2. Infektion		Resultat
Typus	0,0001	intraperitoneal	—	0,001	subkutan	—
„	0,00001	„	—	0,0001	„	—
„	Impfverlust					
„	0,0001	subkutan	—	0,001	intraperitoneal	—
„	0,00001	„	—	0,0001	„	tot nach 48 Std.
„	0,000001	„	—	0,00001	„	—
Fluktuante	0,0001	intraperitoneal	—	0,001	subkutan	tot nach 44 Std.
„	0,00001	„	—	0,0001	„	„ „ 45 „
„	Impfverlust					

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Impfstoff	1. Infektion		Resultat nach 3 Tagen	2. Infektion		Resultat
„	0,0001	subkutan	tot nach 72 Std.			
„	0,00001	„	—	0,0001	intraperitoneal	—
„	0,000001	„	—	0,00001	„	tot nach 48 Std.
Mutante	0,0001	intraperitoneal	tot nach 38 Std.			
„	0,00001	„	—	0,0001	subkutan	tot nach 51 Std.
„	0,000001	„	—	0,00001	„	—
„	0,0001	subkutan	tot nach 31 Std.			
„	0,00001	„	„ „ 48 „			
„	0,000001	„	—	0,00001	intraperitoneal	—
Kontrollen	0,000001	intraperitoneal	tot nach 38 Std.	0,000001	intraperitoneal	tot nach 24 Std.
„	0,000001	subkutan	„ „ 31 „	0,000001	subkutan	„ „ 38 „

Dieser Versuch zeigt die beste Schutzwirkung beim Typus, die schlechteste bei der Mutante.

Wenn man die Resultate der aktiven Immunisierung der Mäuse überblickt, so ergibt sich, daß der virulente Typus und die Fluktuante eine bei weitem bessere Schutzwirkung erzielen als die Mutante. Der Typus scheint noch in geringem Grade besser als die Fluktuante zu wirken, denn in den Parallelversuchen III und V ist das Verhältnis der toten Mäuse zu den infizierten beim Typus 5:11, bei der Fluktuante 6:11. Versuch IV verlief für den Typus sogar noch günstiger, doch fehlt hier der Vergleich zur Fluktuante.

Beim Meerschweinchen dagegen wirkte die Fluktuante eher etwas besser als der Typus. Es ergibt sich hieraus, daß durch den Typus keine deutlich stärkere aktive Immunität erzielt werden kann als durch die Fluktuante. Beide Antigene sind ungefähr gleichwertig und der Mutante überlegen.

Passive Immunisierung.

Die Immunsera wurden dadurch gewonnen, daß Kaninchen mit abgetöteten Agarkulturen der 3 Antigene (Herstellung die gleiche, wie in den vorher erwähnten Versuchen, Impfstoff jedesmal aus 24-stündigen Agarkulturen frisch bereitet) intravenös behandelt wurden. Die Injektionen erfolgten 5—11mal in 7-tägigen Zwischenräumen; zu den Versuchen wurden die Sera verschiedener Tiere verwendet, um individuelle Unterschiede auszuschließen. Die Sera wurden keimfrei filtriert und ohne Zusatz eines Antiseptikums in zugeschmolzenen Glasröhrchen aufgehoben. Die agglutinierende Wirkung der Sera gegenüber den 3 verschiedenen Bacillenformen war, wie schon an anderer Stelle erwähnt, durchaus regelmäßig, so daß auch aus der immunisierenden Wirkung auf eine gewisse Gesetzmäßigkeit in der Wirkungsweise der 3 Antigene geschlossen werden kann.

Die Schutzwirkung der Sera wurde an Mäusen geprüft.

Die Mäuse erhielten 0,1 ccm des Serums intraperitoneal, und 24 Stunden später erfolgte die Infektion mit dem virulenten Typus (24-stündige Bouillonkultur), ebenfalls intraperitoneal.

Versuch VI. Die Sera 8 Monate alt.

Serum			Infektion		Resultat
Serum	Typus	(7 Injektionen)	0,001	intraperitoneal	tot nach 5 Tagen (Blut +)
„	„	(7 „)	0,0001	„	—
„	„	(7 „)	0,00001	„	—
„	„	(7 „)	0,000001	„	—

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Serum	Infektion		Resultat
Serum Typus (11 Injektionen)	0,001	intraperitoneal	tot nach 40 Stunden
„ „ (11 „)	0,0001	„	—
„ „ (11 „)	0,00001	„	—
„ „ (11 „)	0,000001	„	—
Serum Fluktuante (5 Injektionen)	0,001	intraperitoneal	—
„ „ (5 „)	0,0001	„	—
„ „ (5 „)	0,00001	„	—
„ „ (5 „)	0,000001	„	—
Serum Mutante (5 Injektionen)	0,001	intraperitoneal	tot nach 20 Stunden
„ „ (5 „)	0,0001	„	„ „ 40 „
„ „ (5 „)	0,00001	„	—
„ „ (5 „)	0,000001	„	—
Kontrolle	0,000001	intraperitoneal	tot nach 48 Stunden

Die Sera zeigten also deutliche Schutzwirkung, und zwar schützte das Immunserum des Typus und der Fluktuante besser als das der Mutante.

Zur Bestätigung soll noch ein weiterer Versuch angeführt werden.

Versuch VII. Die Sera 3 Monate alt.

Serum	Infektion		Resultat
Serum Typus (No. 18, 6 Injektionen)	0,01	intraperit.	tot nach 16 Stunden
„ „ („ 18, 6 „)	0,0001	„	—
„ „ („ 18, 6 „)	0,000001	„	—
Serum Fluktuante (No. 14, 6 Injektionen)	0,01	intraperit.	tot nach 18 Stunden
„ „ („ 14, 6 „)	0,0001	„	—
„ „ („ 14, 6 „)	0,000001	„	—
Serum Mutante (No. 17, 6 Injektionen)	0,01	intraperit.	tot nach 16 Stunden
„ „ („ 17, 6 „)	0,0001	„	„ „ 22 „
„ „ („ 17, 6 „)	0,000001	„	„ „ 23 „
Normalserum	0,01	intraperit.	tot nach 16 Stunden
„	0,0001	„	„ „ 24 „
„	0,000001	„	„ „ 24 „
Kontrollen	0,01	intraperit.	tot nach 16 Stunden
„	0,0001	„	„ „ 16 „
„	0,000001	„	„ „ 23 „

Es ergab sich also eine deutliche Schutzwirkung der Immunsera, und zwar wirkten die durch den Typus und die Fluktuante erzeugten Immunsera ungefähr gleichstark, während das durch die Mutante erzeugte Immunserum wesentlich schwächer schützte.

Die Resultate der passiven Immunisierung stimmen also mit denen der aktiven Immunisierung überein. Es folgt hieraus hinsichtlich der Bedeutung der 3 Partialantigene: Schleimhülle, Ektoplasma und Endoplasma für die Immunisierung: Die Schleimhülle besitzt keine wesentliche immunisierende Wirkung, denn der Typus erzeugt keine deutlich stärkere Immunität als die schleimhüllenfreie Fluktuante. Das Ektoplasma dagegen ist von großer Bedeutung, da die mit breitem Ektoplasma (wie der Typus) versehene Fluktuante ebenso wirkt wie der Typus, während die mit nur Spuren von sichtbarem Ektoplasma versehene Mntante fast wirkungslos ist. Das Endoplasma allein genügt also nicht.

Diese Resultate der Immunisierungsversuche stimmen überein mit denen der Agglutination: Nur durch den Typus und die Fluktuante ließ sich ein gegen den Typus wirksames, und zwar gleichstark agglutinierendes Serum erzeugen (allerdings von sehr niederem Titer).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Da die fast avirulente Fluktuante ebenso schützend wirkt wie der hochvirulente Typus, ist beim Friedländer-Bacillus die immunisierende Wirkung nicht an eine hohe Virulenz des Antigens gebunden. Doch darf dieser Befund meines Erachtens nicht verallgemeinert werden; er spricht im Gegenteil dafür, daß bei anderen Septikämieerregern virulente Stämme zur Immunisierung verwendet werden müssen, und zwar aus folgenden Gründen:

Das Ektoplasma, bzw. in ihm enthaltene Substanzen haben sich beim Friedländer-Bacillus als sehr wichtig für die Immunisierung erwiesen. Es erscheint also geboten, auch bei anderen Septikämieerregern Stämme mit möglichst gut ausgebildetem, d. h. breitem Ektoplasma zur Immunisierung zu verwenden. Derartige Stämme sind aber wohl meist hochvirulent, denn die „Ektoplasmahypertrophie" [Eisenberg[1])] findet sich als Charakteristikum pathogener Bakterien, bzw. von Kulturen in virulentem Zustand. Beim Friedländer-Bacillus zeigt sich dagegen ein breites Ektoplasma auch bei der avirulenten Fluktuante, während die Virulenz an einen Bestandteil der Bakterienzelle gebunden ist, der als Antigen bis jetzt keine nachweisbare Wirkung entfaltet hat (die Schleimhülle). Infolgedessen wirkt beim Friedländer-Bacillus die avirulente Fluktuante ebensogut wie der virulente Typus.

Auch ist es vermutlich sehr schwierig, bei anderen Septikämieerregern avirulente Varianten zu gewinnen, die bei gleicher Morphologie des Ektoplasmas und Endoplasmas sich bloß in ihrer Virulenz vom pathogenen Ausgangsstamm unterscheiden. Denn das breite Ektoplasma scheint bei den hochpathogenen Arten an den virulenten Zustand gebunden zu sein. Außerdem spricht auch der Umstand, daß die Immunisierung mit virulenten Kulturen, wenn diese abgetötet und richtig dosiert werden, ungefährlich ist und sogar weniger leicht zu anaphylaktischen Erscheinungen führt als die Injektion avirulenter Kulturen, dafür, daß man zur wirksamen Immunisierung am besten virulente Kulturen verwendet.

Verwendung autolysierter Kulturen zur Immunisierung.

Die Schutzimpfung mit dem Typus und der Fluktuante hatte zwar eine gewisse, aber doch verhältnismäßig geringe Wirkung. Ich dachte deshalb daran, dies könnte an der Beschaffenheit des Antigens liegen, etwa daran, daß die Bacillen zu schlecht aufgelöst und resorbiert würden und dadurch keinen genügenden immunisierenden Reiz ausübten.

Die Reaktionen auf die Schutzimpfungen waren auch stets auffallend gering. Dagegen gab mir eine Beobachtung anderer Art die Anregung, alte Kulturen zur Immunisierung zu verwenden.

Ich fand nämlich, als ich die Virulenz des Typus und insbesondere die Abhängigkeit der Virulenz von der Kapselbildung prüfte, daß 4 Wochen alte Kulturen des Typus, die im Laufe dieser Zeit ihre Kapseln verloren hatten, für das Kaninchen eine bedeutend höhere Giftwirkung hatten als frische Kulturen. Ich konnte öfters beobachten, daß 0,5 ccm einer alten Bouillonkultur das Kaninchen im Laufe einiger Stunden töteten, während frische Kulturen in noch höheren Dosen (bis zu 2,0 ccm) vertragen wurden. Die Bakterien zeigen in 4 Wochen alten

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 45.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kulturen schon deutliche Einwirkung der Autolyse (Verschwinden der Kapseln, unregelmäßige, kleinere Form der Stäbchen und schlechte Färbbarkeit). Die größere Giftigkeit ist demnach unschwer auf einen wenigstens beginnenden Abbau des Bakterieneiweißes und auf das Freiwerden von Endotoxinen zurückzuführen. Die Tatsache, daß derartige Kulturen stärkere Reaktionen im Tierkörper auslösten, machte ich für die Immunisierung nutzbar. Dies ist an sich nichts Neues; man hat längst versucht, das Bakterieneiweiß durch Autolyse der Einwirkung der tierischen Körpersäfte zu erschließen und auf diese Weise wirksame Impfstoffe zu erhalten. Merkwürdigerweise jedoch — soviel ich aus der Literatur ersehe — wurden von den alten Kulturen immer nur die wasserlöslichen Bestandteile, das sogenannte Autolysat, verwendet, nachdem es durch Filtration oder Zentrifugieren von den korpuskulären Elementen getrennt worden war. Meines Erachtens kann jedoch auch der ungelöste Rest für die Immunisierung wertvolle Abbauprodukte enthalten, denn der durch das Einwirkenlassen der Autolyse angestrebte Eiweißabbau kann auch über wasserunlösliche Zwischenstufen führen. Ich verwendete infolgedessen die gelösten und ungelösten Bestandteile zusammen. Die Darstellung des Impfstoffes war demnach sehr einfach: Die Agarkulturen wurden nach 24-stündiger Bebrütung sich selbst überlassen und blieben 4 Wochen bei Zimmertemperatur im Dunkeln stehen. Dann wurden sie wie die frischen Kulturen zum Impfstoff verarbeitet.

Aktive Immunisierung.

Meerschweinchen.

Versuch VIII. Tiere 3mal injiziert (0,3 intraperitoneal, Impfstoff für jede Injektion frisch hergestellt), 9 Tage nach letzter Injektion mit virulentem Typus infiziert.

Impfstoff		Infektion	Resultat
Typus, autolysiert	0,1	intraperitoneal	—
„ „	0,01	„	—
„ „	0,001	„	—
Kontrollen	0,01	intraperitoneal	tot nach 72 Stunden
„	0,001	„	„ „ 96 „

Versuch IX. Weiterer Versuch mit Meerschweinchen.

Impfstoff		Infektion	Resultat
Typus, autolysiert	0,5	intraperitoneal	tot nach 21 Stunden
„ „	0,1	„	—
„ „	0,01	„	—
Typus, frisch	0,5	intraperitoneal	tot nach 21 Stunden
„ „	0,1	„	—
„ „	0,001	„	—
Kontrollen	0,1	intraperitoneal	tot nach 24 Stunden
„	0,01	„	„ „ 31 „

Vergleicht man diese Versuche mit den Versuchen I und II, so ergibt sich, daß beim Meerschweinchen die autolysierten Kulturen stärker immunisierend wirken als die frischen.

Mäuse.

Versuch X. Mäuse 3mal injiziert (0,05 intraperitoneal, Impfstoff jedesmal frisch bereitet), 8 Tage nach der 3. Injektion infiziert.

Impfstoff		Infektion	Resultat
Typus, autolysiert	0,0001	intraperitoneal	—
„ „	0,00001	„	—
„ „	0,000001	„	—

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Impfstoff	Infektion	Resultat
Typus, autolysiert	0,0001 subkutan	—
„ „	(Impfverlust nach 2. Injektion)	
„ „	0,000001 subkutan	—
Kontrollen	0,000001 intraperitoneal	tot nach 26 Stunden
„	0,000001 subkutan	„ „ 40 „

Versuch XI. Mäuse 3mal injiziert (Impfstoff jedesmal frisch bereitet), 9 Tage danach Infektion.

Impfstoff	Infektion	Resultat
Typus, autolysiert	0,001 intraperitoneal	—
„ „	0,0001 „	—
„ „	0,00001 „	—
Fluktuante, autolysiert	0,001 intraperitoneal	—
„ „	0,0001 „	—
„ „	0,00001 „	—
Mutante, autolysiert	0,001 intraperitoneal	tot nach 60 Stunden
„ „	0,0001 „	—
„ „	0,00001 „	—
Kontrolle	0,000001 intraperitoneal	tot nach 48 Stunden

Versuch XII. Impfstoff hergestellt wie bei Versuch V, d. h. nach der Sterilisation in Glasröhrchen abgefüllt und zugeschmolzen. Mäuse 3mal injiziert, Dosierung 0,025, 0,05, 0,025, 12 Tage danach Infektion. Da der 1. Infektion nach 3 Tagen noch keine Tiere erlegen waren, erfolgte nach 3 Tagen eine 2. Infektion mit 10-fach höherer Dosis, und zwar wurden jetzt die zuerst intraperitoneal infizierten subkutan infiziert und umgekehrt. Als Antigen wurde auch ein Autolysat des Typus verwendet, das durch Aufschwemmung einer 4 Wochen alten Agarkultur gewonnen war und nur gelöste Bestandteile enthielt (korpuskuläre Elemente durch Filtration entfernt).

Impfstoff	1. Infektion	Resultat nach 3 Tagen	2. Infektion	Definitives Resultat
Typus, autolysiert	0,0001 intraperit.	—	0,001 subkutan	—
„ „	0,00001 „	—	0,0001 „	—
„ „	Impfverlust			
„ „	0,0001 subkutan	—	0,001 intraperit.	—
„ „	0,00001 „	—	0,0001 „	—
„ „	0,000001 „	—	0,00001 „	—
Fluktuante, autolysiert	0,0001 intraperit.	—	0,001 subkutan	tot nach 44 Std.
„ „	0,00001 „	—	0,0001 „	—
„ „	Impfverlust			
„ „	0,0001 subkutan	—	0,001 intraperit.	tot nach 67 Std.
„ „	0,00001 „	—	0,0001 „	—
„ „	0,000001 „	—	0,00001 „	—
Mutante, autolysiert	0,0001 intraperit.	—	0,001 subkutan	tot nach 76 Std.
„ „	0,00001 „	—	0,0001 „	„ „ 52 „
„ „	0,000001 „	—	0,00001 „	—
„ „	0,0001 subkutan	—	0,001 intraperit.	tot nach 79 Std.
„ „	0,00001 „	—	0,0001 „	„ „ 24 „
„ „	0,000001 „	—	0,00001 „	—
Autolysat des Typus	0,0001 intraperit.	—	0,001 subkutan	tot nach 94 Std.
„ „ „	0,00001 „	—	0,0001 „	—
„ „ „	0,000001 „	—	0,00001 „	—
„ „ „	0,0001 subkutan	—	0,001 intraperit.	—
„ „ „	0,00001 „	—	0,0001 „	—
„ „ „	0,000001 „	—	0,00001 „	—
Kontrollen	0,000001 intraperit. tot nach 38 Std.			
„	0,000001 subkutan „ „ 31 „			
„			0,000001 intraperit.	tot nach 24 Std.
„			0,000001 subkutan	„ „ 38 „

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Passive Immunisierung.

(Immunsera vom Kaninchen, Schutzwirkung an Mäusen geprüft.)

Die durch Injektion autolysierter Kulturen des Typus gewonnenen Immunsera zeigten ungefähr die gleiche, auf keinen Fall größere Schutzwirkung als die durch Injektionen frischer Kulturen des Typus und der Fluktuante gewonnenen Sera.

Aus Versuch X, XI und XII ergibt sich, daß die immunisierende Wirkung der autolysierten Kulturen eine wesentlich stärkere ist als die der frischen Kulturen. Eine ähnliche Erscheinung zeigt sich schon bei Vergleich der Versuche III und V. Bei Versuch III wurde der Impfstoff für jede Injektion frisch bereitet, bei V wurde er nach der Sterilisation abgefüllt und für die weiteren Impfungen aufgehoben. Während der Zeit der Aufbewahrung ist die durch Erhitzung auf 65° in geringem Grade eingeleitete Hydrolyse noch weitergegangen (wie dies ja bei der gelinden Hydrolyse des Eiweißes bekannt ist) und hat so einen wirksameren Impfstoff geliefert. Noch weit bessere Resultate erhält man jedoch, wenn man die Kulturen vor der Abtötung längere Zeit der Autolyse überläßt. Sogar die Mutante zeigt dann deutliche Schutzwirkung. Von den mit autolysierten Kulturen behandelten 26 Mäusen ist der 1. Infektion mit einer 1000—1000000-fach tödlichen Dosis nur eine erlegen (Versuch XI, Vorbehandlung mit autolysierter Mutante, Infektion mit 0,001 Typus intraperitoneal), erst bei der zweiten, um das 10-fache gesteigerten Dosis starben mehrere Tiere, so daß die Unterschiede in der Wirksamkeit der Antigene deutlich wurden. Hierbei zeigte sich, daß der autolysierte Typus am wirksamsten war, etwas weniger das Autolysat allein. Die Fluktuante war noch etwas weniger wirksam, am wenigstens die Mutante. Daß die Fluktuante sich bei der Autolyse weniger wirksam zeigte als der Typus (während die frischen Kulturen ungefähr gleich wirksam waren), beruht wohl darauf, daß von der Fluktuante und vom Typus gleich alte Kulturen verwendet wurden und daß die Kulturen der Fluktuante nicht so rasch und weitgehend der Autolyse anheimfallen wie die Kulturen des Typus, denn die Fluktuante zeigt in den Kulturen einen gegenüber dem Typus bedeutend herabgesetzten Stoffwechsel.

Dieser erfolgreiche Ausgang der Experimente berechtigt zu Schlußfolgerungen verschiedener Art, insbesondere über das Wesen der Virulenz sowie über die Bedeutung der Virulenz und der morphologischen Bestandteile der Bakterienzelle für die Immunisierung.

Auf Grund früherer Versuche[1]) sprach ich schon die Vermutung aus, daß ein wesentlicher Faktor der Virulenz, d. h. der Widerstandsfähigkeit der Bakterien gegen die tierischen Schutzkräfte, in einer Festigkeit des Bakterienprotoplasmas gegen die tierischen Schutzfermente begründet sei, daß also der Grad der Virulenz einer Bakterienart gegenüber einer bestimmten Tierspecies abhängig sei erstens von der Fermentfestigkeit der Bakterienart gegen die Schutzstoffe der betreffenden Tierspeices und zweitens von dem Reichtum des Tierkörpers an wirksamen, gegen die betreffende Bakterienart gerichteten Schutzfermenten.

Das Vorhandensein dieser Wechselbeziehung soll noch nach der Methode des Abderhaldenschen Dialysierverfahrens experimentell geprüft werden. In den Dialysierschlauch wäre zu diesem Zwecke das Normalserum der Tierspecies und die

1) Ueber Vererbung und Variabilität bei Bakterien, mit besonderer Berücksichtigung der Virulenz. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. Vgl. bes. p. 272).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bakterien zu bringen, im Dialysat könnte die Wirkung etwa vorhandener, natürlicher Schutzfermente, d. h. die Anwesenheit von Bakterienabbauprodukten, durch die Präzipitation nachgewiesen werden.

Die an die Bestandteile des Bakterienleibes selbst, d. h. an Endoplasma und Ektoplasma, gebundene Komponente der Virulenz ist eine in der spezifischen Konstitution des Bakterienprotoplasmas fixierte, genotypische, d. h. erbliche Eigenschaft. Sie ist jedoch, wie jede Eigenschaft, innerhalb gewisser Grenzen im Sinne einer Modifikation variabel, indem die die Fermentfestigkeit bedingenden Gruppen, je nach Einwirkung der äußeren Reize, bald mehr (Aufenthalt im Tierkörper), bald weniger (in künstlichen Kulturen) gebildet werden.

Die spezifische Virulenz kann noch verstärkt werden durch das Vorhandensein der Schleimhülle, die in unspezifischer Weise nach Art der schleimigen Substanzen die Diffusion der bakterienfeindlichen Serumstoffe erschwert und vielleicht auch durch ihre Größe die Phagocytose unmöglich macht (die bekapselten Friedländer-Bacillen erscheinen im Tuschepräparat ebenso groß wie die Leukocyten der Maus).

Aus den Immunisierungsversuchen ergibt sich in Anknüpfung an diese Anschauungen folgendes:

Die Schleimhüllen wirken nicht als Antigen. Sie bestehen weder aus Mucin, noch aus Nukleoproteiden, sondern wahrscheinlich aus einem zu den Pflanzenschleimen gehörenden, höhermolekularen Kohlehydrat. Ich versuchte schon früher (in der in Anm. 1, p. 271 genannten Arbeit p. 250 kurz mitgeteilt), die schleimige Substanz nach den Methoden, die zur Gewinnung von Mucinen und Nukleoproteiden ausgearbeitet worden sind, zu isolieren; man bekommt jedoch durch Reagentien, welche diese Eiweißkörper fällen würden, keine Fällung. Dagegen sprachen positive Reduktionsproben nach Kochen mit Mineralsäuren für einen erheblichen Gehalt an Kohlehydraten. Die Reingewinnung erscheint infolge der schleimigen Beschaffenheit der Substanz recht schwierig; gröbere chemische Eingriffe verändern sie und sind zu ihrer Gewinnung nicht zu gebrauchen. Auf jeden Fall werde ich noch weiter versuchen, die Substanz der Schleimhüllen zu isolieren. Im übrigen wäre es biologisch schwer verständlich, daß die Schleimhüllen aus Nukleoproteiden bestehen sollten. Denn sie gehören nicht zu den lebenswichtigen Bestandteilen der Bakterienzelle; sie verfallen in den Kulturen schon nach kurzer Zeit der Auflösung, während die Bakterien vollkommen lebensfähig bleiben. Die Nukleoproteide sind dagegen ein charakteristischer Bestandteil des lebenswichtigsten Teiles der Zelle, nämlich des Kerns. Man könnte kaum verstehen, daß sie in so kurzer Zeit (24 Stunden) und in solchem Ueberschuß über die anderen Bestandteile der Bacillen gebildet werden sollten, wie es bei der künstlichen Kultivierung des Friedländer-Bacillus der Fall ist. Am wahrscheinlichsten handelt es sich um ein Sekretionsprodukt kohlehydratartiger Natur.

Dadurch wird es auch verständlich, daß die Schleimhülle keine Antigenwirkung entfaltet, die durch die für die Eiweißkörper charakteristischen Reaktionen nachweisbar ist. Sie veranlaßt weder die Bildung von Agglutininen (Kaninchen) noch von immunisierenden Antikörpern (Kaninchen, Meerschweinchen, Maus). Wäre sie ein Nukleoproteid, so müßte sie, nach den Untersuchungen Abderhaldens (Abwehrfermente, 4. Aufl.), als Antigen wirken. Vielleicht ist die Substanz der Schleimhüllen für den Tierkörper zu fremdartig, um die Bildung spezifischer

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Antikörper anzuregen, wie dies ja bei mehreren Kohlehydraten der Fall zu sein scheint (Abderhalden, l. c.).

Die lebenswichtigen Bestandteile der Bakterienzelle, Endoplasma und Ektoplasma, enthalten dagegen, wie die Versuche eindeutig bewiesen, Substanzen, welche im Säugetier als Antigen wirken und für die Immunisierung wie auch für die Agglutininerzeugung von Wichtigkeit sind. Die Befunde der aktiven und passiven Immunisierung beweisen also zunächst, daß sowohl die Substanzen des Endoplasmas, wie die des Ektoplasmas für die Immunisierung von Bedeutung sind. Außerdem sprechen sie sehr für die oben geäußerte Anschauung über das Wesen der Virulenz. Wenn nämlich ein wesentlicher Faktor der Virulenz auf Seite der Bakterien in einer Festigkeit des Bakterienprotoplasmas gegen die tierischen Schutzfermente besteht, so erscheint es begreiflich, daß das Eiweiß des hochvirulenten Friedländer-Bacillus von den Körpersäften der Maus zu langsam aufgelöst und in zu geringem Grade abgebaut wird, um genügend als Antigen zu wirken. Dies gilt auch für die Fluktuante und die Mutante, obwohl sie weniger virulent sind, aber doch vom gleichen Genotypus stammen. Denn sie besitzen keine Schleimhüllen und können infolgedessen der Abtötung viel leichter erliegen als der Typus, d. h. wenig virulent sein, ohne daß der Abtötung ein für die Immunisierung genügender Grad von Auflösung und Abbau zu folgen braucht. Die Autolyse leitet jedoch den Abbau des Bakterieneiweißes ein, und zwar kann man annehmen, daß dabei die artspezifischen Gruppen besser erhalten bleiben, als bei der Aufspaltung durch chemische Agentien. Die frei gewordenen Gruppen sind jetzt dem zuvor unwirksamen Fermentapparat des Tierkörpers erschlossen und regen eine wirksame Produktion von Schutzfermenten an, welche zunächst und unmittelbar nur gegen die betreffenden Gruppen eingestellt sind. Diese Schutzfermente scheinen aber, wenn sie einmal gebildet sind, eine genügende Affinität zu den ihnen entsprechenden Gruppen zu besitzen, um mit diesen auch im noch nicht erschlossenen Molekül in Reaktion zu treten und dadurch auch das unveränderte Eiweiß anzugreifen; denn sonst könnten sie keine Wirkung gegen das lebende Bakterienprotoplasma ausüben.

Ich möchte zur Stütze letzterer Vermutung kurz einige analoge Erscheinungen aus dem Gebiete der Pathologie und Immunitätsforschung anführen, die schon längst bekannt, aber noch nicht von dem genannten Gesichtspunkt aus beurteilt worden sind: Wenn unter abnormen Bedingungen körpereigene Gewebe zerfallen und ihre Zerfallsprodukte zur Resorption kommen, so entstehen im Blut Substanzen von Antikörpernatur, welche gegenüber dem betreffenden Organeiweiß eine nachweisbare Wirkung entfalten, und zwar nicht nur gegenüber den Zerfallsprodukten des Organeiweißes, sondern auch dem nicht aufgespaltenen Organeiweiß gegenüber. So sind nach Pneumonie und bei anderen krankhaften Zuständen, bei denen es zu einem Zerfall roter Blutkörperchen kommt, Autohämotropine gefunden worden (Rosenow und Dawis, Rowley, Kämmerer und Meyer). Bei der Resorption von Lebergewebe (bei Distomatose) findet sich im Blut ein Autocytopräzipitin, das allerdings nur gegen autolysiertes Antigen gerichtet ist (Centanni). Meerschweinchen werden durch Zertrümmerung einer Niere überempfindlich gegen das artgleiche Organeiweiß (Hertle und H. Pfeiffer). Hauptsächlich gehören aber die Tatsachen, welche Abderhalden durch seine Forschungen über die „Abwehrfermente" klargestellt hat, hierher. Daß ferner autolysierte Antigene stärker wirksam sein können als unveränderte, geht daraus hervor, daß autolysierte Milch stärker präzipitogen wirkt als unveränderte (De Waele). Ebenso verhält es sich mit Leberextrakten (Olivis). Näheres über hierher gehörende Befunde ist bei Ernst Pick, Biochemie der Antigene, und F. Neufeld, Bakteriotropine und Opsonine, in Kolle-Wassermanns Handbuch, 2. Aufl., zu ersehen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Ueberlegenheit der autolysierten Kulturen hinsichtlich der immunisierenden Wirkung findet sich bezeichnenderweise nur bei den Tierspecies, die gegenüber dem Friedländer-Bacillus wenig widerstandsfähig sind, also wenig wirksame Schutzfermente besitzen, nämlich Meerschweinchen und Maus. Beim Kaninchen hatte es dagegen keinen Einfluß, ob frische oder autolysierte Kulturen injiziert wurden. Die Sera hatten in beiden Fällen die gleiche Schutzkraft (und die gleiche agglutinierende Wirkung). Dies ist, analog dem Vorigen, so zu verstehen, daß das Kaninchen dem Friedländer-Bacillus gegenüber sehr widerstandsfähig ist und von Natur sehr wirksame Schutzfermente gegen ihn besitzt. Die Körpersäfte des Kaninchens greifen infolgedessen auch das unveränderte Bakterieneiweiß genügend an, um die für die Antikörperbildung in Betracht kommenden Gruppen frei zu machen. Die vorhergehende Autolyse ist in diesem Falle also nicht notwendig.

Immerhin ermuntern die Versuche dazu, die Immunisierung mit autolysierten Kulturen auch bei anderen Bakterienarten zu versuchen, und zwar besonders bei solchen, welche für die zu immunisierenden Tierarten, bzw. den Menschen eine beträchtliche Virulenz besitzen und deshalb von den Körpersäften nur schwer so weit ausgelöst, bzw. abgebaut werden, daß sie genügende Antigenwirkung entfalten. Natürlich muß nicht nur das Autolysat, sondern auch der ungelöste Rest zur Immunisierung verwendet werden.

Zusammenfassung.

Zu den Versuchen wurde ein Stamm des Friedländer-Bacillus benutzt sowie zwei Varianten (Fluktuante und Mutante) dieses Stammes, die jederzeit und rasch aus dem Stamm zu gewinnen sind. Der Stamm (= Typus) ist hochvirulent und besteht grob morphologisch aus breiter Schleimhülle, breitem Ektoplasma und breitem Endoplasma. Die Fluktuante ist fast avirulent; sie besitzt breites Endoplasma und breites Ektoplasma, keine Schleimhülle. Die Mutante ist ebenfalls fast avirulent; sie besitzt ein schmales Endoplasma und nur Spuren sichtbaren Ektoplasmas, keine Schleimhülle.

Diese drei Antigene hatten folgende Schutzwirkung gegen eine Infektion mit dem virulenten Typus.

Frische, d. h. 24 Stunden alte, abgetötete Agarkulturen des Typus und der Fluktuante bewirkten bei Mäusen und Meerschweinchen einen deutlichen, und zwar ungefähr gleich starken Schutz, die Mutante dagegen nur sehr geringen. Daraus folgt, daß beim Friedländer-Bacillus die Schleimhülle keine nachweisbare Bedeutung als immunisierendes Antigen besitzt; auch der Virulenzgrad kommt für den Immunisierungserfolg nicht in Betracht.

Von großer Bedeutung für die Immunisierung sind dagegen im Ektoplasma enthaltene Substanzen. Das Endoplasma allein, bzw. mit nur Spuren von Ektoplasma verleiht nur sehr geringen Schutz. Die Resultate der passiven Immunisierung (Kaninchensera) ergaben ebenfalls, daß die Schleimhülle als Antigen nicht in Betracht kommt, daß dagegen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

das Ektoplasma von großer Bedeutung ist, während das Endoplasma allein nur wenig wirkt.

Diese Befunde decken sich vollkommen mit den früheren Versuchen über die agglutininerzeugende Wirkung der Bestandteile der Kapselbacillen.

Eine wesentlich stärkere aktive Immunität läßt sich bei den empfänglichen Tieren durch Injektion autolysierter Kulturen erzielen; dies zeigte sich bei sämtlichen Antigenen, doch war der Typus weitaus am stärksten wirksam (vermutlich war er am stärksten autolysiert). Dagegen hatten Immunsera von Kaninchen, die durch autolysierte Kulturen gewonnen waren, keine stärkere Schutzwirkung, als die durch frische Kulturen des Typus und der Fluktuante gewonnenen Sera.

Diese Unterschiede in der immunisierenden Wirkung der frischen und autolysierten Kulturen bei empfänglichen und resistenten Tieren erklären sich durch die Beziehungen zwischen Virulenz und Antigenwirkung der Bakterien.

Nachdruck verboten.

Die intrakutane Tuberkulination bei Hühnern.

[Aus dem Reichsseruminstitut zu Rotterdam (Direktor Prof. Dr. J. Poels).]

Von **Joël Fredrik Hendrik Louis van Leeuwen,**
Tierarzt in Rotterdam.

Inhalt:

Einleitung 275
Historischer Teil 276
Eigene Untersuchungen 277
I. Die intrakutane Tuberkulination bei Hühnern 279
II. Retuberkulination bei gesunden Hühnern 285
III. Ein Vergleich zwischen dem Werte des Rinder- und Vogeltuberkulins bei der intrakutanen Tuberkulination von Hühnern 286
Schlußfolgerungen 287
Literatur 287

Einleitung.

Aus Untersuchungen, besonders der letzten Jahre, die über die biologischen Eigenschaften des Vogeltuberkelbacillus vorgenommen wurden, ergab sich, daß dieser Bacillus eine nicht zu unterschätzende Gefahr für alle Säugetiere, selbst für den Menschen, bildet.

Die Veranlassung zu diesen Untersuchungen gab de Jong, der im Jahre 1913 spontane Vogeltuberkulosefälle bei weißen Mäusen konstatierte.

Im Jahre 1904 wurde diese Mitteilung durch Rabinowitsch bestätigt, dem gleichzeitig die Isolierung von Vogeltuberkelbacillen aus tuberkulösen Ratten gelang, während Lydia Rabinowitsch im Jahre 1906 einen sehr wichtigen, durch einen Vogeltuberkelbacillus verursachten Fall von Tuberkulose beim Menschen feststellte.

Allmählich sind dann die Untersuchungen in dieser Richtung mit dem Erfolge fortgesetzt worden, daß analoge Prozesse bei Schweinen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und Rindern gefunden wurden, so daß man also die Vogeltuberkulose vom hygienischen Standpunkt aus sicher berücksichtigen muß.

Auch vom rein ökonomischen Standpunkte ist diese Krankheit von Wichtigkeit. Im besonderen haben amerikanische und deutsche Forscher nachgewiesen, daß jährlich Tausende und aber Tausende Hühner von der Tuberkulose ergriffen werden und sterben, während überdies die Statistiken ein jährliches Wachstum dieses Prozentsatzes nachweisen.

Sollen dieser Krankheit der Hühner Schranken gesetzt werden, so so ist hierfür die einzige Methode eine schnelle, klinische Feststellung der Diagnose. Da jedoch klinische Symptome fehlen, und verschiedene allergische Reaktionen absolut negative Resultate liefern, so war dies bis vor kurzer Zeit unmöglich.

Im April des Jahres 1914 jedoch veröffentlichten van Es und Schalk in North Dakota einen über die intrakutane Tuberkulination bei Hühnern handelnden Artikel. Sie behaupteten, hiermit günstige Resultate erreicht zu haben.

Infolge des obengenannten Artikels habe ich auf den Rat von Prof. Dr. J. Poels, Direktor des Reichsseruminstituts zu Rotterdam, Versuche in dieser Richtung angestellt.

Später wird sich zeigen, ob diese neue Untersuchungsmethode die Tuberkulose unter den Hühnern auf ein Minimum beschränken wird und ob die für Mensch und Tier von dieser Seite bestehende Infektionsgefahr im Anschluß hieran so klein wie möglich werden wird.

Historischer Teil.

Als das durch Koch (1) entdeckte Tuberkulin bei subkutaner Impfung als Diagnostikum gebraucht wurde, ereignete sich der eigenartige Fall, daß bei Säugetieren und speziell bei Rindern günstige Resultate erzielt wurden, während man bei Hühnern keinen Erfolg hatte.

Diese Untersuchungen wurden bereits im Jahre 1892 durch Babes (2) unternommen, dem bald Straus (3), Ward (4), Moore (5), Saalbeck (6) u. a. folgten. Alle gelangten zu dem Schlusse, daß Vögel bei subkutaner Injektion von Tuberkulin, ganz gleich ob dieses aus Säugetier- oder Vogeltuberkelbacillen bereitet ist, nicht reagieren.

Der Einzige, der im Jahre 1892 mit einem seiner Versuchstiere ein positives Resultat erzielte, war Diem (17).

Bei einem Huhn stieg die Kloakentemperatur von 42,8° C vor der Infektion auf 44,1 und 44,3° resp. 4 und 6 Stunden nach der Operation, 10 Stunden nach der Tuberkulination war die Temperatur wieder auf normal 42,8° C gefallen. Die Sektion dieses Tieres ergab tuberkulöse Leber und Milz.

Im Jahre 1907 entdeckte v. Pirquet (8) die Kutireaktion für den Menschen und kurz darauf in demselben Jahre Wolff-Eisner (9) die conjunctivale Methode. Beide, durch Vallée (10) bei Tieren angewandte Arten gaben gute Resultate.

Im Anschluß hieran unternahmen Klimmer und Saalbeck (11) im Jahre 1910 ausgedehnte Versuche mit 666 Hühnern, bei welchen sie mit 6 Sorten Tuberkulin die subkutane, die conjunctivale und die kutane Methode anwandten, aber auch jetzt wieder ohne irgendwelche positiven Resultate.

Moussu und Mantoux (12) waren es, die im Jahre 1908 auf die Idee kamen, die Ursache derselben melden sie nicht, Tuberkulin in die Haut zu applizieren.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Sie nannten dies l'intradermoréaction; sie wurde durch sie bei Rindern, Schweinen, Ziegen und Schafen angewandt und als die praktischste und bequemste Methode gerühmt.

Römer (13), der unabhängig von den beiden französischen Forschern einige Zeit darauf zur intrakutanen Tuberkulination gelangte, wurde hierzu durch die Tatsache veranlaßt, daß auf eine subkutane Infektion heftig reagierende Rinder häufig für kutane Impfung unempfindlich waren. Er schrieb dies dem Umstande zu, daß das Resorptionsvermögen der Haut bei verschiedenen Tieren individuell verschieden ist. Um nun dieses Resorptionsvermögen möglichst zu erhöhen, applizierte er das Tuberkulin nicht auf, sondern in die Haut.

Joseph (14), der diese Methode auch einer Prüfung unterworfen hat, schreibt, daß die Priorität der intrakutanen Tuberkulination nicht Moussu und Mantoux, sondern Mendel (15) zukommt, der sie vor diesen beiden Forschern bereits beim Menschen angewandt hat, aber wegen Mangels an Material seine Versuche aufgeben mußte.

Interessant sind die durch Römer und Joseph (16) bei Rindern und künstlich infizierten Meerschweinchen gemachten Versuche. Sie glauben, hauptsächlich für ihre Versuche bei Meerschweinchen einen gewissen prognostischen Wert bei dieser intrakutanen Methode bemerkt zu haben. In wie weit diese Voraussetzung richtig war, mußte von ihnen noch näher untersucht werden.

Ermutigt durch die durch Moussu und Mantoux bei Säugetieren erzielten, glänzenden Resultate, beschlossen van Es und Schalka (17), diese Intradermoreaktion bei Hühnern zu versuchen.

Als Injektionsstellen wählten sie den Kamm und eines der Ohrläppchen. Ist ein Huhn tuberkulös, dann wird nach ungefähr 24 Stunden an der Injektionsstelle eine Reaktionsschwellung entstehen, welche meistens zwischen 24 und 48 Stunden am deutlichsten auftritt, um hiernach wieder an Intensität abzunehmen, so daß nach 72 Stunden häufig nichts mehr zu sehen ist.

Beim Vergleich der aufgetretenen Reaktionen zwischen Kamm und Ohrläppchen fanden sie, daß bei 4,25 Proz. der Fälle nur eine Kammreaktion auftrat gegen 21,25 Proz. beim Ohrläppchen, während in 74,50 Proz. die Reaktion auf beiden Stellen zugleich war.

Eigene Untersuchungen.

Bevor ich mit den eigentlichen Versuchen begann, habe ich mir zunächst die Technik der Operation zu eigen gemacht. Diese ist ziemlich einfach. Die Hauptsache ist, daß der Operateur selbst sicher ist, daß die Kanüle wirklich in der Haut sitzt und nicht darunter.

Beiden obengenannten Forschern folgend, verrichtete ich die Injektion auch am Kamm und an einem der Ohrläppchen, bin jedoch schnell zu dem Schlusse gekommen, daß die letztere Stelle der ersteren vorzuziehen ist, und zwar aus folgenden Gründen:

1) Die Haut des Ohrläppchens ist weniger kompakt als die des Kammes, woraus sich ein bequemeres Eindringen in dieselbe mit der Kanüle ergibt, wobei sich aber besonders der große Vorteil bietet, daß das Tuberkulin besser hineingespritzt werden kann.

2) Infolge der Festigkeit des Kammgewebes muß man bei der Injektion einen derartigen Druck anwenden, daß es Mühe kostet, die Operation gut auszuführen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3) Die Resultate der Kamminjektion sind bei mir nihil gewesen. Niemals habe ich am Kamm irgendwelche Reaktion beobachten können, sogar nicht, wenn die Ohrläppchenreaktion prächtig hervortrat.

Ueber die eigentliche Technik der Operation möchte ich folgendes erwähnen:

van Es und Schalk hielten es für wichtig, die Injektionsstellen gut zu reinigen. Sie sagen hierüber auf p. 25: „Making injection in a proper manner is probably the most important feature in the testing technic."

Sie sagen mit Recht, daß es wahrscheinlich so ist; ich meinesteils teile ihre diesbezüglichen Ansichten aber nicht, denn die durch mich in dieser Richtung angestellten Versuche haben ergeben, daß es für die Reaktion gleich ist, ob eine vorherige gründliche Reinigung des Kammes und der Ohrläppchen erfolgt ist. Wohl kann es ab und zu vorkommen, daß an den genannten Stellen eine geringe Lage von Epidermaschüppchen liegt, welche die Operation mehr oder weniger behindert. In diesem Fall jedoch kann man mit einem Tuche oder mit dem Daumen und Finger die Schüppchen fortreiben.

Ich habe gerade meine besondere Aufmerksamkeit hierauf gerichtet, weil es für den Praktiker wichtig ist, zu wissen, ob jede Injektion rein geschehen muß. Glücklicherweise sind diese Vorsichtsmaßregeln für die Reaktion nicht nötig.

Für die Injektion nimmt man eine kleine Rekordspritze (1 ccm) mit feiner Kanüle; je feiner, je besser, denn dann gelangt man nicht so schnell unter die Haut. Man müßte an der Kanüle auch eine ziemlich kurze Spitze verlangen, schon wegen der Möglichkeit, leichter in der Haut zu bleiben, aber notwendig ist dies nicht. Ich habe die Injektion stets mit den gewöhnlichen, im Handel befindlichen Instrumenten ausgeführt.

Die Menge des zu injizierenden Tuberkulins darf natürlich nicht zu groß sein, weil sonst ein zu ausgebreiteter Gewebedefekt stattfinden und hierdurch die Tadellosigkeit der Reaktion leiden würde. Gleichwie van Es und Schalk, habe ich $^1/_{30}$—$^1/_{20}$ ccm zur Injektion genommen, jedoch mit dem Unterschiede, daß sie eine 50-proz. Solution gebrauchten, ich aber das Tuberculine brute, so wie dieses durch das Reichsserum-institut zu Rotterdam geliefert wird. Dessen Zubereitung ist kurz folgende:

Man läßt Tuberkelbacillen 6—8 Wochen auf 5-proz. Glyzerinbouillon bei 37—38° C wachsen; hierauf erhitzt man 2 Stunden auf 100° C, um die Bacillen zu töten, dann filtriert man, verdampft auf $^1/_{10}$ des Volumens. Nach der Verdampfung läßt man einige Wochen auf einer kalten, dunklen Stelle stehen. Es bildet sich dann ein dicker, weißgrauer Niederschlag; darauf erhitzt man und zentrifugiert warm. Es scheidet sich eine helle, braune Flüssigkeit, das Tuberculine brute, ab.

Der bedeutendste technische Faktor ist meines Erachtens der Druck, den man bei der Injektion ausüben muß. Eine genaue Beschreibung desselben ist natürlich unmöglich, da es eine Erfahrungssache ist, aber es ist wohl selbstverständlich, daß der Druck größer sein muß, wenn die Kanüle in der Haut, als wenn sie darunter sitzt. Der Unterschied ist so frappant, daß man nach einiger Uebung hierin ihn nicht mehr vergißt. Zweifelt man in einigen Fällen, dann sticht man die Kanüle an einer anderen Stelle nochmals ein.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ist die Operation gut verrichtet, und ist das Tier tuberkulös, dann wird sich an der Injektionsstelle eine Entzündungsschwellung des Ohrläppchens entwickeln.

Da es mir, aus später zu erwähnenden Gründen, wichtig schien, diese Reaktion genau zu beobachten, will ich im allgemeinen Teile hierauf nicht weiter eingehen.

Zur Erlangung einer guten Uebersicht über meine Untersuchungen habe ich diese in besonderen Hauptstücken behandelt.

I. Die intrakutane Injektion bei Hühnern.

Wenn man einem Huhn auf die angegebene Weise in eins der Ohrläppchen $^1/_{30}$—$^1/_{20}$ ccm Tuberkulin (wenn nichts weiter angegeben ist, ist mit Tuberkulin stets Vogeltuberkulin gemeint) einspritzt, dann sieht man an der Injektionsstelle eine Geschwulst entstehen, die bestehen bleibt, um nach und nach allmählich in eine reaktive Entzündungsschwellung überzugehen.

Die ziemlich schnell nach der Injektion auftretende Schwellung, welche 10—12 Stunden und länger andauern kann, hat mit dem eigentlichen anaphylaktischen Prozeß nichts zu tun. Jede willkürliche, mehr oder weniger irritierende Flüssigkeit, z. B. Glyzerin, gibt dasselbe Bild.

Ich weise absichtlich auf diese, bei jedem Huhn nach der Injektion zu beobachtende Vorreaktion hin, weil man sich leicht irren kann, wenn man die Tiere zu schnell einer Untersuchung unterwirft.

Will man die Vorreaktion ausschließen, dann ist es ratsam, die Hühner erst 24 Stunden nach der Operation zu besichtigen.

In diesem Falle sieht man:

1. Hühner ohne eine Spur von Schwellung,
2. Hühner mit zweifelhafter Schwellung,
3. Hühner mit einer deutlichen Schwellung.

Untersucht man die zu Gruppe 1 gehörigen Hühner, dann bemerkt man in den meisten Fällen keinen Unterschied zwischen den beiden Ohrläppchen. Bisweilen wird es scheinen, als ob man die Injektionsstelle noch als einen dunkelblauen Fleck inmitten des sonst roten Ohrläppchens wahrnehmen könne. Dieser ist jedoch ein Ueberrest der Vorreaktion und deshalb für uns ohne Bedeutung.

Bei Hühnern aus Gruppe 3 beobachtet man, daß das tuberkulinierte Ohrläppchen in der Schwellung beharrt. Letztere kann sogar noch an Intensität zunehmen. Ihren Höhepunkt erreicht sie häufig in der 48. Stunde, um dann allmählich abzunehmen, so daß nach 72 Stunden häufig von einer Reaktion nichts mehr zu spüren ist.

Vergleicht man bei einem derartigen Tier beide Ohrläppchen, so bemerkt man, daß das kranke dicker ist als das gesunde; es hängt infolge der Schwere tiefer, bisweilen mehr als 1 cm, und ist nicht so prächtig rot, sondern mehr blaßblau. In ausgesprochenen Fällen beschränkt sich die Schwellung nicht nur auf das Ohrläppchen, sondern breitet sich auch auf die Umgebung aus, besonders auf die Gegend der Kehle; bisweilen wird sogar die ganze kranke Kopfhälfte in den Prozeß einbezogen, so daß man ein Huhn mit einem einseitig geschwollenen Gesicht vor sich hat.

Palpiert man das Ohrläppchen, dann fühlt es sich warm an und ist überdies ödematös.

Ob die Tiere Schmerz darin empfinden, kann ich nicht mit Sicherheit behaupten. Einige Hühner bleiben ruhig, fressen und trinken wie

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gewöhnlich, andere hingegen sind unruhig, laufen hin und her und gackern fortwährend.

Die Hühner aus Gruppe 2 sind die zweifelhaften, und in vielen Fällen ist ein vorurteilsloser Schluß bei ihnen schwierig. Ich rate daher, diese Tiere nochmals, und zwar dieses Mal in das gesunde Ohrläppchen, zu tuberkulinieren.

Der Verlauf der Reaktion ist verschieden. Es gibt Tiere, bei denen man nach 4—5 Tagen nach der Tuberkulination keinen Unterschied zwischen den beiden Ohrläppchen beobachten kann; andere hingegen haben an der Injektionsstelle eine sich hart anfühlende Geschwulst zurückbehalten, die man für eine Bindegewebegeschulst halten könnte, wenn die Entstehungszeit nicht zu kurz wäre.

Als ich das Auftreten dieser Geschwulst beobachtete, meinte ich, sie in zweifelhaften Fällen für eine positive Reaktion benutzen zu können, besonders auch, weil diese Geschwulst ziemlich häufig bei Tieren mit positiver Reaktion vorkommt, in geringerem Maße bei solchen mit negativer Reaktion. Ich habe jedoch die Wertlosigkeit erkannt.

Was die Anwesenheit der Geschwulst betrifft, so variiert diese sehr. In einigen Fällen ist von ihr nach einigen Tagen nichts mehr zu entdecken, in anderen Fällen kann sie für das fernere Leben bestehen bleiben.

Ich befürwortete oben in zweifelhaften Fällen eine wiederholte Injektion in das andere Ohrläppchen, die geschehen kann, wann der Operateur will. Man braucht hier also nicht, wie z. B. bei der subkutanen Tuberkulination bei Rindern, einige Wochen zu warten.

Michaelis und Eisner (18), welche über diese lokalen, anaphylaktischen Reaktionen eine Theorie aufgestellt haben, erklären dies folgendermaßen:

Ist ein Tier kürzlich infiziert, ist es also nach ihnen noch im ersten Stadium der Krankheit, dann werden die gebildeten Antikörper, in diesem speziellen Falle die Antituberkuline, nicht direkt in der Blutbahn vorkommen, sondern an die Mutterzelle gebunden bleiben. Diese nichtfreien Antikörper nennen sie „sessile Rezeptoren".

Im zweiten Krankheitsstadium wird eine Menge dieser sessilen Rezeptoren frei, ein anderer Teil bleibt fest, während im dritten Stadium so gut wie alle sessilen Rezeptoren frei geworden sind. Tuberkuliniert man also ein Tier im ersten Stadium der Krankheit, dann wird man eine heftige lokale gegen eine schwache allgemeine Reaktion erhalten, im dritten Stadium hat man dann genau das Umgekehrte.

Nach dieser Theorie würde man also gerade so lange eine lokale Reaktion erwecken können, bis alle sessilen Rezeptoren verbraucht sind. Und dies stimmt denn auch mit der Praxis überein. Verschiedene meiner Versuchstiere habe ich kurz hintereinander in dasselbe Ohrläppchen möglichst an derselben Stelle tuberkuliert, und jedesmal trat die Reaktion auf, die jedoch im Verhältnis zur Häufigkeit der Injektionen des Ohrläppchens an Intensität abnahm.

Da die größere oder geringere Tauglichkeit der intrakutanen Tuberkulination erst zutage tritt, wenn man nach Abschlachtung der Tiere eine makroskopische und mikroskopische Untersuchung vornimmt, will ich hier nur eine Liste derjenigen Hühner geben, die ich vollständig habe untersuchen können:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No.	Reaktion			Läsionen		Mikroskopische Untersuchung
	24 Std.	48 Std.	72 Std.	Organe	Grad	
1	+	+?	—	—	—	—
2	+	+?	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—
6	—	—	—	—	—	—
7	+?	—	—	—	—	—
8	—	—	—	—	—	—
9	—	—	—	—	—	—
10	—	—	—	—	—	—
11	+?	—	—	—	—	—
12	—	—	—	—	—	—
13	—	—	—	—	—	—
14	—	—	—	—	—	—
15	—	—	—	—	—	—
16	—	—	—	—	—	—
17	++	+++	+	Leber, Milz	+	+
18	—	—	—	—	—	—
19	—	—	—	—	—	—
20	—	—	—	—	—	—
21	—	—	—	—	—	—
22	—	—	—	—	—	—
23	—	—	—	—	—	—
24	—	—	—	—	—	—
25	?	—	—	—	—	—
26	?	—	—	—	—	—
27	—	—	—	—	—	—
28	?	—	—	—	—	—
29	—	—	—	—	—	—
30	?	—	—	—	—	—
31	?	—	—	—	—	—
32	—	—	—	—	—	—
33	—	—	—	—	—	—
34	—	—	—	—	—	—
35	—	—	—	—	—	—
36	—	+	+	Leber, Milz	+	+
37	+	+	—	Leber	+	+
38	—	—	—	—	—	—
39	+	++	+	Leber, Milz	++	+
40	+	+	+	Leber	+	+
41	—	—	—	—	—	—
42	+	++	+	Leber, Milz	+	+
43	—	+	+	„ „	+	+
44	?	—	—	—	—	—
45	—	—	—	—	—	—
46	—	—	—	—	—	—
47	—	—	—	—	—	—
48	+	+	+	Leber, Milz	+	+
49	+	+	+?	„ „	+	+
50	+	+	—	„ „	+	+
51	+	++	+	„ „	+	+
52	+	++	+	„ „	+	+
53	—	—	—	—	—	—
54	—	—	—	—	—	—
55	—	—	—	—	—	—
56	—	—	—	—	—	—
57	—	—	—	—	—	—
58	+	+	?	Leber, Milz	+	+
59	+?	+	+	„ „	++	+
60	—	?	tot	„ „	+++	+
61	+	+	?	„ „	+	+

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No.	Reaktion			Läsionen		Mikroskopische Untersuchung
	24 Std.	48 Std.	72 Std.	Organe	Grad	
62	—	—	—	—	—	—
63	—	—	—	—	—	—
64	—	tot	tot	Leber, Milz	+++	+
65	—	—	—	—	—	—
66	+	+	+	Leber, Milz	+	+
67	+	+	?	„ „	+	+
68	+	+	—	—	—	—
69	+	—	—	—	—	—
70	+	++	+	Leber, Milz	++	+
71	—	+	+	„ „	++	+
72	—	—	—	„ „	+++	+
73	—	—	—	„ „	+++	+
74	—	—	—	—	—	—
75	—	—	—	—	—	—
76	—	—	—	—	—	—
77	—	—	—	—	—	—
78	—	—	—	—	—	—
79	—	—	—	—	—	—
80	—	—	—	—	—	—
81	—	—	—	—	—	—
82	—	—	—	—	—	—
83	—	—	—	—	—	—
84	—	—	—	—	—	—
85	—	—	—	—	—	—
86	+	++	—	Leber, Milz	++	+
87	—	—	—	—	—	—
88	—	—	—	—	—	—
89	—	—	—	—	—	—
90	—	—	—	—	—	—
91	—	—	—	—	—	—
92	—	—	—	—	—	—
93	—	—	—	—	—	—
94	—	—	—	—	—	—
95	—	—	—	—	—	—
96	—	—	—	—	—	—
97	—	—	—	Leber, Milz	+++	+
98	++	+	+	„ „	+	+
99	—	tot	tot	„ „	+++	+
100	—	—	—	—	—	—
101	—	tot	tot	Leber, Milz	+++	+
102	—	—	—	—	—	—
103	—	—	—	—	—	—
104	—	—	—	—	—	—
105	—	—	—	—	—	—
106	+	+++	++	Leber, Milz	++	+
107	+	+	+	—	—	+
108	+	+	tot	—	—	+
109	+	+	+	—	—	+
110	+	+	+	Leber, Milz	++	+
111	++	+++	+	„ „	++	+
112	?	—	—	—	—	—
113	+	+	—	—	—	—
114	+	+	—	—	—	—
115	+	+	—	—	—	—
116	—	—	—	—	—	—
117	—	—	—	—	—	—
118	—	—	—	—	—	—
119	—	—	—	—	—	—
120	—	—	—	—	—	—
121	—	—	—	—	—	—
122	?	—	—	—	—	—

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No.	Reaktion			Läsionen		Mikroskopische Untersuchung
	24 Std.	48 Std.	72 Std.	Organe	Grad	
123	+	+	—	—	—	—
124	—	—	—	—	—	—
125	—	—	—	—	—	—
126	—	—	—	—	—	—
127	—	—	—	—	—	—
128	—	—	—	—	—	—
129	—	—	—	—	—	—
130	+	—	—	—	—	—
131	+?	—	—	—	—	—
132	+?	—	—	—	—	—
133	—	—	—	—	—	—
134	?	—	—	—	—	—
135	—	—	—	—	—	—
136	—	—	—	—	—	—
137	—	—	—	—	—	—
138	?	—	—	—	—	—
139	—	—	—	—	—	—
140	+	++	+	Leber, Milz	+	+

Erklärung der Zeichen:

+ = leichte Reaktion
++ = starke „
+++ = sehr starke Reaktion
— = keine Reaktion
? = zweifelhafte Reaktion

Die Zeichen für die Reaktion gelten in derselben Weise für den Grad der Läsionen. Ein + oder — Zeichen deutet bei der mikroskopischen Untersuchung die positive oder negative Anwesenheit von Tuberkelbacillen an.

Wenn man diese Liste aufmerksam studiert, wird man bemerken:

1) Hühner, welche keine Reaktion aufweisen, wohl aber pathologisch-anatomische Abweichungen in Organen und eine positive mikroskopische Untersuchung (z. B. No. 72 und 73).

2) Hühner, welche eine positive Reaktion gezeigt haben, jedoch keine pathologisch-anatomischen Abweichungen, wohl aber eine positive Untersuchung (No. 107, 108, 109).

3) Hühner, welche eine positive Reaktion aufwiesen, aber keine pathologisch-anatomischen Abweichungen, eine negative mikroskopische Untersuchung (No. 113, 114, 115).

Die Erscheinungen bei den zur Gruppe 1 gehörigen Hühnern können sehr gut durch die oben erwähnte Theorie von Michaelis und Eisner erklärt werden.

Diese Tiere waren sehr kachektisch und so schwach, daß die meisten die Tuberkulination nicht einmal haben überleben können. Bei ihnen ließ sich die Diagnose denn auch klinisch bereits mit großer Wahrscheinlichkeit feststellen, und kann man annehmen, daß sie im dritten Stadium der Krankheit waren, in dem alle sessilen Rezeptoren frei geworden sind.

Was die Hühner der Gruppe 2 anbetrifft, so ist die Erklärung sehr einfach. Es ist natürlich sehr gut möglich, daß die Tuberkulination so kurz nach der Infektion stattfindet, daß von einer Tuberkelbildung noch keine Rede sein kann. Dies ist unter anderem der Fall mit No. 107 und 108; diesen ursprünglich gesunden Tieren wurde eine Emulsion von Vogeltuberkelbacillen intravenös injiziert. 12 Tage nach der Injektion wurden sie tuberkuliniert, reagierten positiv, zeigten keine Läsionen während die mikroskopische Untersuchung positiv war.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Schwieriger, wenigstens weniger befriedigend, ist eine Erklärung für die 3. Gruppe, positive Reaktion, keine Läsionen, negative mikroskopische Untersuchung. Die Schwäche liegt hier in der mikroskopischen Untersuchung, und doch kann ich diesbezüglich die Versicherung geben, daß sie mit großer Genauigkeit geschehen ist. Nicht 1, sondern sogar 6 Präparate wurden aus den verschiedenen Organen gemacht und untersucht.

Sollten vielleicht doch noch Tuberkelbacillen im Körper anwesend gewesen, jedoch nicht gefunden worden sein? Man sollte zu dieser Annahme hinneigen, da ich mir auf andere Weise nicht erklären kann, daß derartige Tiere eine bestimmt positive Reaktion aufwiesen.

Was sind nun schließlich die Resultate dieser intrakutanen Tuberkulination? Ich habe bei der Einteilung den folgenden Gedankengang verfolgt:

1) Negativ haben diejenigen Hühner reagiert, bei denen in der Liste kein einziges + oder ? Zeichen vorkommt.

2) Zweifelhaft haben solche Hühner reagiert, welche nur am ersten Tage ein + Zeichen haben, oder am ersten oder (und) anderen Tagen ein ? Zeichen.

3) Alle anderen Tiere, die nicht unter 1 und 2 fallen, wurden zu jenen mit positiver Reaktion gerechnet.

Oberflächlich betrachtet, liegt der Gruppe 2 eine unlogische Erwägung zugrunde bezüglich derjenigen Hühner, welche am ersten Tage positiv reagiert haben. Jedoch ist dies nicht der Fall; die Tiere waren in einem derartig guten Ernährungszustand, daß ich die Ueberzeugung hatte, sie könnten nicht krank sein. Ich kann denn auch nicht genug Nachdruck auf die Tatsache legen, daß man bei der Beurteilung der Reaktion stets mit dem Habitus des Individuums rechnen muß, und überdies kann es doch sehr gut vorkommen, daß die scheinbar positive Reaktion noch ein Rückstand der Vorreaktion ist.

No. 130, 131 und 132 wurden nach der ersten Tuberkulination abgesondert, jede Woche ihr Gewicht kontrolliert und nach 3 Wochen wiederum tuberkuliniert. An Gewicht hatten sie nach 3 Wochen zugenommen, und die aufgetretene Reaktion unterschied sich nicht von der ersten.

Untersucht man nun die Tabelle an der Hand des angegebenen Maßstabes, dann erhält man:

a) Anzahl Hühner mit negativer Reaktion	88		
nicht reagierende Hühner mit negativer mikroskopischer Untersuchung	82	(± 93	Proz.)
nicht reagierende Hühner mit positiver mikroskopischer Untersuchung	6	(± 7	„)
b) Anzahl Hühner mit zweifelhafter Reaktion	17		
zweifelhaft reagierende Hühner mit negativer mikroskopischer Untersuchung	16	(± 94	„)
zweifelhaft reagierende Hühner mit positiver mikroskopischer Untersuchung	1	(± 6	„)
c) Anzahl Hühner mit positiver Reaktion	35		
positiv reagierende Hühner mit positiver mikroskopischer Untersuchung	28	(80	„)
positiv reagierende Hühner mit negativer mikroskopischer Untersuchung	7	(20	„)

van Es und Schalk hatten die folgenden Zahlen:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

a) Hühner ohne Reaktion	130	
nicht reagierende Hühner ohne Läsionen	120	(91,58 Proz.)
nicht reagierende Hühner mit Läsionen	10	(8,47 „)
b) Hühner mit zweifelhafter Reaktion	57	
zweifelhaft reagierende Hühner ohne Läsionen	30	(52,64 „)
zweifelhaft reagierende Hühner mit Läsionen	27	(47,36 „)
c) Hühner mit typischer Reaktion	90	
reagierende Hühner mit Läsionen	88	(97,77 „)
reagierende Hühner ohne Läsionen	2	(2,23 „)

Vergleicht man beide Tabellen, dann ist besonders ersichtlich, daß van Es und Schalk 97,77 Proz. positive Fälle mit Läsionen konstatiert haben, gegen 80 Proz. meinerseits.

Ihre Resultate sind also bezüglich dieses Teiles beträchtlich günstiger als die meinigen.

Was die beiden anderen Gruppen betrifft, so habe ich bessere Zahlen erhalten, besonders wenn man berücksichtigt, daß die 6 Hühner aus Gruppe a und das eine Huhn aus Gruppe b derartig kachektisch waren, daß im voraus von einer Reaktion nichts zu erwarten war.

Im allgemeinen ist man daher wohl berechtigt, zu sagen, daß die intrakutane Tuberkulination bei Hühnern, wenn auch nicht glänzende, so doch befriedigende Resultate liefert.

II. Retuberkulination bei gesunden Hühnern.

Als ich mit eigenen Versuchen beschäftigt war, drängte sich mir die Frage auf: Wie wird sich ein gesundes Huhn verhalten, wenn es nach einer gewissen Zeit nochmals tuberkuliniert wird?

Ich hielt eine Antwort auf diese Frage für wichtig, weil man dann bei einer eventuellen positiven Reaktion vorsichtig mit seiner Diagnose sein mußte.

Ist doch in der menschlichen Heilkunde die durch Levy (19), Cohn (20) u. a. nachgewiesene Tatsache eine bekannte Erscheinung, daß eine Wiederholung der Einträufelung von Tuberkulin in den Conjunctivalsack nach einer gewissen Zeit eine Reaktion der Konjunktiva in Form einer muko-purulenten Conjunctivitis offenbart.

Diesbezügliche, durch Cohn angestellte Versuche haben ergeben, daß 75 Proz. der bei der ersten Tuberkulination nicht reagierenden Kinder dies bei der zweiten wohl taten. Tröpfelte man zur Kontrolle in das andere Auge ein, nötigenfalls mit einer stärkeren Tuberkulinlösung, dann ergibt sich, daß dieses Auge absolut nicht reagiert.

Mantoux und Perroy (21) haben Caviae subkutan Tuberkulin injiziert. Spritzten sie den Tieren 5, 6—10 Tage nach der subkutanen Injektion intrakutan Tuberkulin ein, dann trat keine Reaktion auf.

Verrichteten sie die intrakutane Tuberkulination nach 10 Tagen, dann reagierten die Tiere wohl.

Man könnte also infolge obengenannter Versuche zu der Annahme geneigt sein, daß es sich hier um eine lokale Anaphylaxie handelt.

Um nun zu sehen, wie sich Hühner einer Reinjektion von Tuberkulin gegenüber verhalten, habe ich verschiedenen Tieren in das rechte Ohrläppchen ungefähr $^1/_{10}$ ccm Vogeltuberkulin brute eingespritzt.

Zu verschiedenen Zeiten (siehe Tabelle) habe ich dann den Tieren in dasselbe Ohrläppchen, unter denselben Verhältnissen und so viel wie möglich an derselben Stelle nicht $^1/_{10}$, sondern $^1/_{30}$—$^1/_{20}$ ccm Vogeltuberkulin brute intrakutan injiziert. Bei keinem einzigen Tier trat auch nur die geringste Reaktion auf.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Anzahl der Hühner	Zeitraum zwischen 2 Injektionen	Reaktion	Organ-läsionen	Mikroskopische Untersuchung
1	9 Tage	—	—	—
6	13 „	—	—	—
6	16 „	—	—	—
8	20 „	—	—	—
6	23 „	—	—	—
2	27 „	—	—	—

Hieraus schließe ich, daß bei gesunden Hühnern eine lokale Anaphylaxie infolge einer früheren Tuberkulination nicht vorkdmmt. Jede positive Reaktion muß also als selbständig betrachtet werden, mit anderen Worten, man darf sie nicht mit einer einige Zeit früher geschehenen Tuberkulination in Verbindung bringen.

III. Vergleich zwischen dem Wert des Rinder- und Vogeltuberkulins bei der intrakutanen Tuberkulination bei Hühnern.

Obwohl man in der letzten Zeit in wissenschaftlichen Kreisen mehr und mehr zu der Annahme hinneigt, daß zwischen dem Säugetier- und Vogeltuberkelbacillus ein Artunterschied nicht besteht, zieht man für diagnostische Zwecke doch stets das Tuberkulin vor, welches mit der Tierart übereinstimmt, für welche es gebraucht wird.

Daß es wirklich empfehlenswert ist, hiermit zu rechnen, haben van Es und Schalk (17) bewiesen.

Sie hatten eine Serie von 11 Hühnern. Diese wurden zunächst einer Tuberkulination mit Rintertuberkulin unterworfen; 2 von den 11 Tieren reagierten positiv.

Einen Monat später wurden dieselben Hühner nochmals tuberkuliniert, nun jedoch mit Vogeltuberkulin. Da ergab sich, daß außer den beiden vorigen noch 3 andere Tiere positiv reagierten. Die Sektion ergab nach beiden Forschern, daß die 3 letzten Hühner auch schon bei der ersten Tuberkulination tuberkulös waren.

Die einzelnen durch mich angestellten Versuche habe ich einigermaßen anders eingerichtet.

Da gegen eine intrakutane Tuberkulination der Tiere während oder kurz nach einer Tuberkulination keine Bedenken bestehen, habe ich diese in Anwendung gebracht.

Bei Betrachtung der nachfolgenden Tabelle sieht man, daß 10 Hühner durch mich in das rechte Ohrläppchen mit Vogeltuberkulin tuberkuliniert wurden und daß alle 10 positiv reagierten. Von denselben, am linken Ohrläppchen mit Rindertuberkulin tuberkulinierten Tieren zeigten nur 2 positive Reaktion.

Zur Feststellung, ob das linke Ohrläppchen nach der eventuellen Reaktion noch für Vogeltuberkulin empfindlich wäre, führte ich hier nochmals eine intrakutane Injektion mit Vogeltuberkulin aus. Und auch nun reagierten die Hühner alle positiv.

Hieraus ergibt sich also aufs neue, daß es angebracht ist, dasjenige Tuberkulin zu gebrauchen, welches mit der Tierart übereinstimmt, für welche es bestimmt ist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ohrläppchenreaktion.
V = Vogeltuberkulin, R = Rindertuberkulin.

No.	Rechtes V	Linkes R	Linkes V
1	+	—	+
2	+	—	+
3	+	+	+
4	+	—	+
5	+	+	+
6	+	—	+
7	+	—	+
8	+	—	+
9	+	—	+
10	+	—	+

Schlußfolgerungen.

1) Die intrakutane Tuberkulination liefert ziemlich günstige Resultate zur Erkennung der Tuberkulose unter den Hühnern.

2) Die nach einer Tuberkulination bisweilen auftretende Geschwulst ist für die Stellung der Diagnose von keiner Bedeutung.

3) Bei der Beurteilung der Reaktion muß stets der Ernährungszustand, in dem sich das Tier befindet, berücksichtigt werden.

4) Will man ein Huhn aus dem einen oder anderen Grunde nochmals tuberkulinieren, so ist eine Wartezeit von einigen Wochen nicht nötig, sondern es kann dies während oder kurz nach der Reaktion geschehen.

5) Lokale Anaphylaxie infolge einer vorhergehenden Tuberkulination kommt bei gesunden Hühnern nicht vor, mit anderen Worten, jede Reaktion muß als selbständig betrachtet werden.

6) Für die intrakutane Tuberkulination bei Hühnern muß stets Vogeltuberkulin gebraucht werden.

Literatur.

1) Koch, Ueber bakteriologische Forschung. (Verhandl. d. X. Intern. Med. Kongr. Berlin 1890.)
2) Babes, A. et V., Sur certaines subst. chim. prod. par le bacille de la tub. sur la tub. aviaire. (Congr. pour l'étude de la tub. chez l'homme et chez les animaux. Paris 1892.)
3) Straus, La tuberculose et son bacille. Paris 1895.
4) Ward, Poultry diseases in California. (Proc. Amer. Vet. Med. Hartford 1904.)
5) Moore, A study of avian tuberculosis. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 1. 1906.)
6) Saalbeck, Ist das Tuberkulin zur Feststellung der Tuberkulose am lebenden Hausgeflügel zu gebrauchen? [Inaug.-Diss.] Leipzig 1909.
7) Diem, Versuche mit Tuberkulin bei Hühnertuberkulose. (Monatsschr. f. prakt. Tierheilk. Bd. 3. 1892.)
8) v. Pirquet, Demonstration zur Tuberkulindiagnose durch Hautimpfung. (Berlin. klin. Wochenschr. 1907. No. 22.)
9) Eisner, Wolff, Berlin. klin. Wochenschr. 1907. No. 22.
10) Vallée, Sur un nouveau procédé de diagnostique expérimental de la tub. et de la morve. (Bull. Soc. centr. de méd. vét. T. 61. 1907.)
11) Klimmer u. Saalbeck, Ueber den diagnostischen Wert des Tuberkulins bei tuberkulösen Haus- und Truthühnern. (Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 14. 1910.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

12) Moussu et Mantoux, Sur l'intradermo-réaction à la tuberculin, chez les animaux. (Bull. Soc. centr. de méd. véd. T. 62. 1908.)
13) Römer, Ueber intrakutane Tuberkulinanwendung zu diagnostischen Zwecken. (Beitr. z. Klin. d. Tub. Bd. 12. 1909.)
14) Joseph, Die diagnostische Bedeutung der intrakutanen Tuberkulinreaktion. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1909. No. 46.)
15) Mendel, Die v. Pirquetsche Hautreaktion und die intravenöse Tuberkulinbehandlung.
16) Römer u. Joseph, Zur Verwertung der intrakutanen Reaktion auf Tuberkulin. (Beitr. z. Klin. d. Tuberk. Bd. 14. 1909.)
17) van Es and Schalk, Avian tuberculosis. (Bull. North Dakota Agric. Exp. Stat. 1904. No. 108.)
18) Michaelis u. Eisner, Nachweis und Bedeutung des Antituberkulins im Blutserum von Phthisikern. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 6. 1913.)
19) Levy, Ueber die conjunctivale Tuberkulinreaktion. (Deutsch. med. Wochenschr. Bd. 34. 1908. No. 5.)
20) Cohn, Berlin. klin. Wochenschr. 1908. No. 17.
21) Mantoux et Perroy, Intradermo-réaction à la tuberculine chez le cobaye sain tuberculiné. (Compt. rend. Soc. de Biol. T. 70. 1911.)

Nachdruck verboten.

Die Verwendung von Drigalski-Schalen zur Gewinnung von Typhus- und Cholera-Impfstoff mit Hilfe eines einfachen Apparates.

[Aus dem Hygienischen Institut Würzburg (Vorstand: Prof. Dr. K. B. Lehmann).]

Von Dr. **Ph. O. Süssmann,** Assistenten am Institut.

Mit 3 Figuren.

Das Hygienische Institut Würzburg hatte die Aufgabe übernommen, für das Kgl. Preußische Kriegsministerium 250 l Choleraimpfstoff zu liefern. Im Auftrage und unter ständiger fördernder Anteilnahme meines Chefs, Herrn Prof. Dr. K. B. Lehmann, habe ich die Arbeit durchgeführt, unterstützt von dem Feldunterarzt cand. med. J. Strecker, zwei Militärkrankenwärtern und einem Institutsdiener.

Für die Herstellung des Impfstoffes, der nach dem Prinzip von Kolle[1]) abgetötete Vibrionen enthalten sollte, war folgende Anweisung gegeben:

„Nur Agarkulturen verwenden. Abschwemmen in physiologischer Kochsalzlösung. 2 Oesen = 4 mg pro 1 ccm. Abtöten bei 53° C, Sterilitätskontrollen anlegen. So viel Karbol zusetzen, daß der gebrauchsfertige Impfstoff höchstens $^1/_2$ Proz. Karbol enthält."

Zur Gewinnung der zur Impfstoffbereitung nötigen Massenkulturen bedient man sich wohl in den meisten Instituten der sogenannten Kolle-Schalen, deren Handhabung ich als bekannt voraussetzen darf. Bei ihrer Verwendung hat man die Gewißheit, einen tadellos sterilen Nährboden zu erhalten, da dieser in den durch einen Wattepfropf verschlossenen Schalen selbst sterilisiert wird und erstarrt. Die Gefahr einer Verunreinigung durch Luftkeime bei der Beimpfung und Aberntung

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 19. 1896. p. 97 ff.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ist bei der verhältnismäßig kleinen Oeffnung gering, auch ist ein Verspritzen von Bakterienemulsionströpfchen beim Ausgießen unschwer zu vermeiden.

Der Umstand, daß in unseren Institutsbeständen nur wenige Kolle-Schalen, dagegen zahlreiche Drigalski-Schalen vorrätig waren, legte mir den Gedanken nahe, zur Massenherstellung von Impfstoff die letzteren zu verwenden. Dieses Verfahren schien noch von ganz besonderem Vorteil zu sein durch folgende Ueberlegung:

Der Durchmesser des Bauches der Kolle-Schalen beträgt 14,5 cm, der unserer Drigalski-Schalen 19,0 cm; die entsprechenden beimpfbaren Flächen einer Schale also 1,65 qdm, bzw. 2,85 qdm. Eine Kolle-Schale hat die Höhe von knapp $3^1/_2$ cm, eine Drigalski-Schale nur von gut 2 cm. Deshalb vermag jeder unserer Brutschränke (2 Fächer von je 64 cm Höhe) 60 Drigalski-Schalen, dagegen nur 36 Kolle-Schalen auf einmal aufzunehmen. Dies entspricht einer Gesamtimpffläche von 36mal 1,65 = 59,5 qdm bei Kolle-Schalen, aber 60mal 2,85 = 171 qdm bei Drigalski-Schalen. Da aber unter sonst gleichen Verhältnissen der Ertrag an Kulturmasse proportional der beimpften Fläche ist, so geht daraus hervor, daß eine Brutschrankfüllung bei Verwendung der geschilderten Drigalski-Schalen den dreifachen Ertrag liefert gegenüber der Verwendung von Kolle-Schalen. Und wenn für den Zweck nur einziger Brutschrank zur Verfügung steht, wie es bei uns infolge anderweitiger übermäßiger Inanspruchnahme unserer Brutöfen der Fall war, so ermöglicht die Verwendung der ersteren ein dreimal schnelleres Arbeiten.

Allerdings stieß dieses Verfahren zunächst auf verschiedene Schwierigkeiten.

Die Befürchtung, es möchte beim Gießen der Platten das Nährsubstrat durch Luftkeime verunreinigt werden, erwies sich bei raschem und sorgfältigem Arbeiten als grundlos [1]).

Unangenehmer ist der Umstand, daß sich beim Abkühlen der gegossenen Platten am Schalendeckel leicht Kondenswasser niederschlägt. Tröpfchen desselben, welche über den Rand der unteren Schale an deren oft nicht mehr sterile Außenseite geflossen waren, können beim Umdrehen der Schalen ins Innere zurückfließen, Keime mitführen und so die Sterilität des Nährbodens vernichten. Wir beschränkten die Kondenswasserbildung erheblich

a) durch Erwärmen der Schalen vor dem Gießen auf ca. 50° C;

b) durch Abkühlenlassen des geschmolzenen Agars vor dem Gießen auf die gleiche Temperatur;

c) durch Vornahme des Gießens und Erstarrenlassens in einem gut geheizten Zimmer.

Dadurch und durch völlige Vermeidung des Umkehrens der Schalenschicht nach oben konnten wir eine Verunreinigung derselben infolge der Kondenswasserbildung unterdrücken.

Ferner schien es zunächst, als ließe sich das Beimpfen der Drigalski-Schalen, deren Deckel dabei gehoben werden muß, wieder nur unter großer Gefahr des Hineinfallens von Luftkeimen bewerkstelligen.

---

1) Eine bei Beginn der Arbeiten oft aufgetretene Verunreinigung der Platten durch Stäbchen mit äußerst resistenten Sporen zeigte sich durch Verwendung nicht sporenfreier Watte bedingt und wurde nach Erkennung mit einem Schlage beseitigt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die von uns geübte Methode der Beimpfung schloß dies jedoch nahezu völlig aus und bietet sogar noch mehr Garantie gegen Verunreinigung durch Luftkeime als die Verwendung der Kolle-Schalen. Wir brachten nämlich auf jede Platte etwas Cholerabouillon, welche in sogenannten Undinen von ca. 100 ccm Fassungsvermögen (von der Form der gebräuchlichen Augentropfgläser) 18—24 Stunden bei Bruttemperatur zur Entwicklung gebracht wurde. Die seitliche Oeffnung dieser Gläser, durch welche die Bouillon mittels Platinöse beimpft wurde, war durch einen Wattepfropf verschlossen, der ganze Schnabel mit steriler Watte umhüllt. Zur Impfung der Platten wurde die Watte abgenommen, der Schnabel nochmals kurz abflambiert und dann durch ihn unter geringem Emporheben des Deckels etwa 3 ccm Bouillon auf jede Platte gegossen. Dieses Ausgießen geht bei ein wenig Uebung so schnell vor sich, der entstehende Spalt zwischen Deckel und Bodenplatte ist so minimal, daß mit dem Eindringen von Luftkeimen praktisch nicht mehr zu rechnen ist. Nach der Beimpfung wurde die Bouillon durch Hin- und Herschwenken der geschlossenen Schalen auf der ganzen Nährschicht verteilt, was ebenfalls bei einiger Uebung äußerst schnell zu erreichen ist.

Was uns die Verwendung der Drigalski-Schalen zu dem angegebenen Zweck am meisten zu erschweren schien, war die Befürchtung, es könnte bei dem Abschwemmen der Kulturen infolge des niedrigen Randes der Schalen und Mangels eines Ausgusses gar zu leicht ein Verspritzen von Keimen oder sonstwie eine Beschmutzung der Umgebung mit solchen und damit die Gefahr der Infektion der Arbeitenden eintreten [1]). Da schuf die Verlegenheit einen Apparat, der nicht nur diese Gefahr beseitigte, sondern auch ein so schnelles, reinliches und angenehmes Arbeiten ermöglichte, daß wir mit Hilfe desselben die Verwendung von Drigalski-Schalen vorgezogen hätten, selbst wenn wir nicht aus den angegebenen speziellen Gründen und Rücksichten der Raum- und Zeitersparnis dazu genötigt gewesen wären. Dieser Apparat sei hier kurz beschrieben:

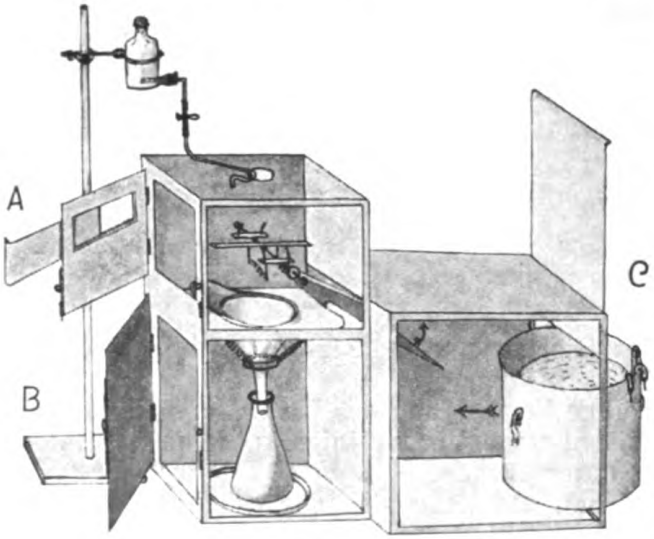


Fig. 1.

Sein äußeres Gerüst bilden 3 in der Hauptsache aus Weißblech gearbeitete Kästen (*A*, *B*, *C*), welche in der Art und Weise, wie die beigefügte leicht schematisierte Fig. 1 zeigt, miteinander verlötet sind. Um dem Betrachter ein Bild von den Größenverhältnis-

1) Da die Kulturen nach der Aberntung sofort abgetötet und mit Phenol versetzt werden, spielt die Verunreinigung durch den einen oder anderen Luftkeim, der sich doch nicht mehr vermehren kann, jetzt keine Rolle mehr.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sen zu gestatten, sei angegeben, daß die ganze Höhe ($A + B$) 51 cm, die ganze Breite ($B + C$) 65,5 cm beträgt[1]).

Den wichtigsten Teil des Apparates enthält der Kasten A: die (ganz aus Messing gearbeitete) „Drehachse“ [2]). Die aus Spiegelglas bestehende Vorderwand (V) wird etwa in der Mitte (durch ein messingenes Achsenlager abgedichtet) von einem massiven Stift (St) durchbohrt, der einige Finger breit vor ihr einen Handgriff (G) besitzt. Dem Stifte gerade gegenüber trägt die aus kräftigem Weißblech gefertigte Hinterwand (H) einen Zapfen (Z) von gleichem Durchmesser. Ueber den in das Innere des Kastens ragenden Teil des Stiftes und über den Zapfen, die beiden zu einer einzigen geradlinigen Achse ergänzend, ist ein Rohr (R) geschoben, welches vorn an das Achsenlager stößt und hinten von einem durch den Zapfen getriebenen Nagel (N) in seiner Lage festgehalten wird[3]). Ueber diesem Rohr selbst befinden sich wieder 3 verschiebliche

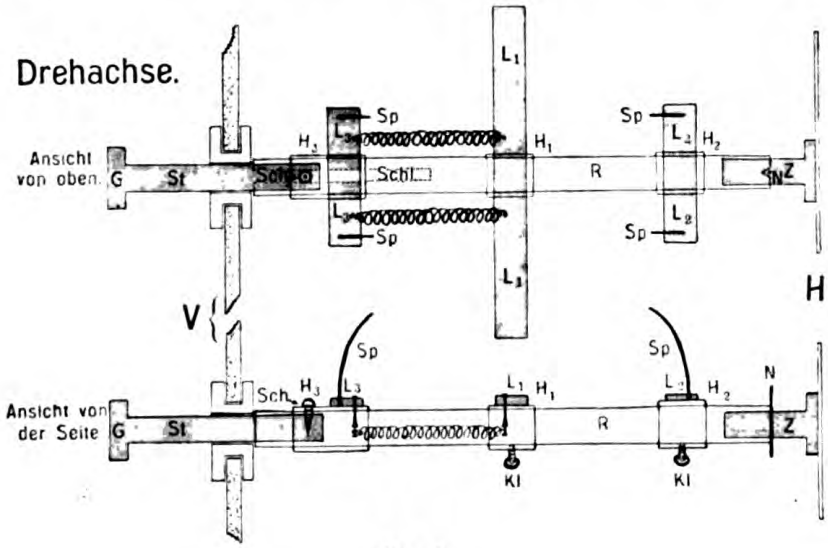


Fig. 2.

Hülsen (H_1, H_2, H_3), auf deren Oberseiten flügelartig nach den Seiten abstehende Leisten (L_1, L_2, L_3) aufgelötet sind. H_1 und H_2 können in ihrer Lage durch Klemmschrauben (Kl) fixiert werden. Die beiden kürzeren Leisten L_2 und L_3 tragen links und rechts je eine in sanftem Bogen nach oben und innen sich erhebende Spange (Sp). Zwischen L_1 und L_3 sind beiderseits kräftige Spiralfedern ausgespannt. Eine Schraube (Sch) durchbohrt die Hülse H_3 und senkt sich durch den Schlitz ($Schl$), den die vordere Hälfte des Rohres R aufweist, tief in den Stift St hinein. Durch diese Verschraubung wird

a) die Hülse H_3 fest mit dem Stift St verbunden und gezwungen, seinen schiebenden Bewegungen zu folgen, soweit es die Länge des Schlitzes ($Schl$) zuläßt;

1) Die einzelnen genauen Maßzahlen stehen auf Verlangen gern zur Verfügung.

2) In der beigefügten Fig. 2 ist das tatsächliche Verhältnis der Dicke zu den Längenmaßen aus Gründen der Deutlichkeit nicht gewahrt.

3) Die in der Figur zu sehende Einkerbung des Rohres dient der Arretierung der Achse in horizontaler Richtung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

b) das völlige Herausziehen des Stiftes (*St*) verhütet;

c) das Rohr (*R*) mit seinen sämtlichen Anhängseln gezwungen, alle drehenden Bewegungen des Stiftes (*St*) mitzumachen.

In den Boden des Kastens *A* ist eine kreisförmige Oeffnung von 15 cm Durchmesser geschnitten, deren Rand fingerbreit nach unten überfällt. Gegen den Rand dieser Oeffnung wird von unten her (Kasten *B*) durch 3 Spiralfedern ein leicht auswechselbarer Glastrichter gedrückt. Die linke Seitenwand von *A* besitzt in ihrer oberen Hälfte einen fast ihre ganze Tiefe einnehmenden, 5 cm hohen Spalt, der für gewöhnlich durch einen Schieber verschlossen ist[1]).

Durch diesen Spalt läßt man die bewachsene Platte, deren Deckel vorher abgenommen wurde, in das Innere des Kastens *A* hineingleiten. Durch Ziehen am Handgriff *G* der Drehachse entfernt man gleichzeitig die mit den Spangen versehenen Leisten L_2 und L_3 so weit voneinander, daß die Schale bequem auf der Leiste L_1 fortgleiten kann, bis sie sich vollständig im Innern des Kastens befindet. Darauf läßt man den Handgriff wieder los, wobei die Schale von den beiderseitigen Spangen erfaßt und durch die Kraft der Spiralfedern unverrückbar festgehalten wird. Der Schieber wird geschlossen.

In die ebenfalls aus Spiegelglas bestehende Deckplatte des Kastens *A* ist gerade über der Mitte der Achse ein Loch von $5^1/_2$ cm Durchmesser

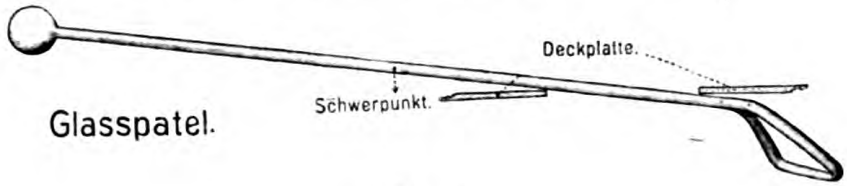


Fig. 3.

gebohrt. Durch dieses Loch gibt man nun etwas sterile physiologische Kochsalzlösung auf die Platte[2]). Dann führt man durch die Oeffnung einen sterilen Glasspatel von beigezeichneter Form (Fig. 3) ein und kann mit diesem die Kulturmasse leicht zur Ablösung vom Nährboden und zur Emulsion bringen. Unterstützt wird dieser Vorgang durch leichtes Hin- und Herschwenken der Flüssigkeit, was man durch Drehbewegungen des Achsenhandgriffes *G* bewerkstelligt. Nach Beendigung der Emulgierung legt man den Spatel, wie die Fig. 3 zeigt, quer durch die Decköffnung und erreicht dadurch, daß sein mit der Kultur in Berührung kommendes Ende innerhalb des Kastens verbleibt. Jetzt dreht man, wieder unter Handhabung des Griffes *G*, die Platte nach links, bis sie vollständig senkrecht steht, oder sogar noch darüber hinaus. Die Bakterienemulsion fließt dabei über den Rand der Schale, tropft durch die Oeffnung im Boden[3]) in den Trichter und durch diesen in einen

1) Die ganze Wand ist übrigens auch als dicht schließende Tür gearbeitet, welche jedoch nur zu Reinigungszwecken geöffnet wird.

2) Wir haben oberhalb des Apparates eine Flasche angebracht, in welcher sich sterile Kochsalzlösung befindet. Ein Glasrohr, das nur an einer Stelle durch Gummischlauch mit Quetschhahn ersetzt ist, führt von ihr durch die erwähnte Oeffnung direkt ins Innere des Kastens *A*. (Siehe die Fig. 1.)

3) An deren linkem Rand erhebt sich ein halbmondförmiger Blechstreifen schräg nach oben und dient als Tropfenfänger.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

darunterstehenden sterilen Erlenmeyer-Kolben von etwa 300 ccm Fassungsvermögen. Ist die Aberntung auf diese Weise vollzogen — man kann, wenn nötig, mit Salzlösung nochmals nachspülen —, so dreht man die Platte wieder in die Horizontale zurück und kippt sie nach der anderen Seite. Hier stößt sie auf eine schiefe Ebene, die sich in den großen Kasten *C* hinabsenkt. Durch Ziehen am Handgriff *G* wird die Platte aus ihrer Umklammerung gelockert und gleitet auf der schiefen Ebene durch einen 4 cm hohen Spalt in den Kasten *C*, wo sie zuletzt in einen großen Emailtopf fällt, der mit stark desinfizierender Flüssigkeit gefüllt ist (in unserem Falle 20-proz. Schwefelsäure). Zunächst stößt sie an den durch eingehängte Gummischläuche gepolsterten jenseitigen Rand des Gefäßes, dann sinkt sie langsam in der Flüssigkeit unter. Ist das Desinfektionsgefäß gefüllt (es faßt ohne Gefahr des Zerbrechens 10 Schalen), so wird es durch ein neues ersetzt, während die im herausgenommenen Topfe befindlichen Schalen durch den Diener sofort gereinigt werden. Die Erlenmeyer-Kolben, in welchen sich die Bakterienemulsion sammelt, werden, wenn sie die Flüssigkeit von 10 Schalen aufgenommen haben, ebenfalls durch leere ersetzt. Inzwischen kann gleichzeitig die Abtötung des abgeernteten Materials stattfinden. Nachdem von jedem Kolben ein mikroskopisches Präparat angefertigt worden war, wurde er auf einem Wasserbad unter Umrühren mit einem sterilen Thermometer auf 53° C erhitzt und darauf 1 Stunde in einem Thermostaten von 53° C belassen. Die Anlegung von Kontrollröhrchen oder -platten und die Verdünnung ging dann in üblicher Weise vor sich.

Es erübrigt noch, einige Einzelheiten anzuführen. Daß eine Seite des Kastens *B* (am besten die linke) als Tür gearbeitet sein muß, um die Auswechslung der Erlenmeyer-Kolben und des Trichters zu ermöglichen, ist selbstverständlich; ebenso ist die rechte Seite des Kastens *C* eine nach oben herausziehbare Schiebetür, durch welche die Desinfektionsgefäße ein- und ausgeführt werden. Sämtliche Vorderwände bestehen, um den Blick ins Innere zu gestatten, aus eingefaßten Glasplatten. Weil es manchmal vorkommt, daß beim Hineinfallen der Platten in das Desinfektionsgefäß Flüssigkeitstropfen über dessen Rand hinausspritzen, so ist der Boden des Kastens *C* zweckmäßig mit einer dicken Filzplatte belegt. Um überhaupt das Blech den Einwirkungen der Desinfektionsmittel möglichst zu entziehen und um dem Apparat ein gefälliges Aeußere zu verleihen, sind alle seine Blechteile innen und außen mit weißem Emaillack überzogen. Der in den Kasten *C* ragende Teil der schiefen Ebene ist in einem Scharnier beweglich. Beim Einschieben der Desinfektionsgefäße wird er zur Decke des Kastens hinaufgeschlagen; befindet sich der Topf vollständig im Innern des Kastens, so läßt man ihn über dessen Rand hinüberfallen, bis der Rand der schiefen Ebene in die Flüssigkeit eintaucht.

Die Desinfektion des Apparates ist einfach. Vor dem Gebrauch hat man diejenigen Teile, welche später mit der Kulturflüssigkeit in Berührung kommen, genügend abzuflambieren (mittlere Leiste L_1, Rand der Oeffnung im Boden des Kastens *A* nebst Tropfenfangblech, Trichter). Nach der Aberntung reinigt man die beschmutzten Teile, welche überall leicht zugänglich sind, mit desinfizierender Flüssigkeit (5-proz. Karbolsäure oder 0,5-proz. Sublimatlösung) und wäscht mit Wasser, wenn nötig, unter Benutzung von Seife und Bürste nach.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der geschilderte Apparat wird, so kompliziert er auf den ersten Blick scheinen möchte, von einem geschickten Klempner und Mechaniker in 2—3 Tagen hergestellt. Der Anschaffungspreis belief sich uns auf 70 M. In der Handhabung ist er so verblüffend einfach, daß es uns großes Vergnügen gewährte, ihn Laien wie Kollegen im Betriebe vorzuführen. Es ist mit seiner Hilfe einer einzigen geübten Person möglich, in der Stunde 35 Drigalski-Schalen = 1 qm Kulturrasen (entsprechend ca. 17 g Kulturmasse oder über 4 l Cholera-, bzw. etwa 25 l Typhusimpfstoff) abzuernten. So wirkt er, abgesehen von der Gefahrlosigkeit des Arbeitens (so daß man bakteriologisch auch weniger geschulte Personen mit seiner Bedienung betrauen könnte), als Zeit- oder Personensparer; die durch ihn ermöglichte Verwendung der Drigalski-Schalen hilft, wie erwähnt, ihrerseits wieder Zeit oder Raum sparen. Daß letztere auch im übrigen ein sehr angenehmes Arbeiten gestatten, ist allgemein bekannt. Abgesehen von ihrer geringen Zerbrechlichkeit halten diese Schalen bei richtigem Gießen die Nährschicht unabgleitbar fest und bieten außerdem den Vorteil, sich ohne Gefahr des Abrutschens zu hohen Säulen aufschichten zu lassen, was wiederum unter dem Gesichtspunkt der Raumersparnis schätzenswert erscheint.

Nachdruck verboten.

Zur Bekämpfung der Kleiderläuse.

[Aus dem Laboratorium der Lazarettapotheke Königsbrück (Chefarzt des Reservelazaretts II Stabsarzt Dr. Thiersch).]

Von Dr. **Alfred Zucker,** Vorstand der Lazarettapotheke.

Mit 16 Figuren im Text.

Die Belegung des Truppenübungsplatzes Königsbrück mit 9000 russischen Kriegsgefangenen hat auch uns recht unfreiwillig die Bekanntschaft mit Millionen echt russischer Kleiderläuse vermittelt.

Da das Fleckfieber (Typhus exanthematicus), dessen Erreger zu den filtrierbaren Virusarten zählen dürfte, wohl in der Hauptsache, wenn nicht ausschließlich, durch Läuse, insbesondere Kleiderläuse, übertragen wird, war die Bekämpfung derselben im hiesigen Lager nicht nur für die Gefangenen, sondern für uns alle, die wir mit den Kriegsgefangenen mittelbar oder unmittelbar in Berührung kommen, von größter Wichtigkeit.

Herr Stabsarzt Galewsky hat die im hiesigen Lager mit Erfolg durchgeführte Behandlung und Prophylaxe der Läuse in No. 10 der Deutsch. med. Wochenschrift 1915 bereits geschildert, so daß es sich nur noch erübrigt, über die von uns im Laboratorium der Lazarettapotheke gemachten Beobachtungen zu berichten.

Im Gegensatz zu allen bisherigen Veröffentlichungen konstatierten wir, daß das Verhalten der Kleiderläuse durchaus kein einheitliches ist. Denn die mit Blut gesättigte Laus verhält sich ganz anders wie die hungernde, die ausgewachsene verschieden von der eben ausgeschlüpften. Auch das Verhalten der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Läuse am Menschen oder Tiere ist ein wesentlich anderes wie im Reagensglas. Dadurch erklären sich die bezüglich der wirksamen Bekämpfungsmittel stark auseinander weichenden Ansichten.

Die Kleiderlaus gehört zu jenen Quälgeistern der Menschen, die man in der Familie der Pediculinen findet. Diese Familie zerfällt wieder in 2 Gattungen: Pediculus und Phtirius. Zur ersteren zählt Pediculus capitis (Kopflaus) und Pediculus vestimenti (Kleiderlaus), zur letzteren Phtirius inguinalis (Filzlaus).

Die ausgewachsene Kleiderlaus ist 3—4 mm lang, 1—1½ mm breit. Unter dem Mikroskop erkennt man schon bei schwacher Vergrößerung männliche und weibliche Tiere daran, daß das letzte Segment beim Männchen abgerundet ist, während es beim Weibchen einen Einschnitt zeigt (Fig. 1 u. 2). Die Männchen sind kleiner und weniger zahlreich wie die Weibchen. Die Farbe wechselt, je nach dem Alter, von Grau bis Schmutziggelb. Beim Ausschlüpfen aus den Eiern ist die Kleiderlaus fast farblos und durchsichtig; je mehr sie mit dem Tageslicht in Berührung kommt, um so stärker färbt sie sich. Der Kopf ist von

Fig. 1. Männchen.

Fig. 2. Weibchen.

ovaler Gestalt, trägt halbkugelartig hervorstehende, nicht facettierte Augen, ferner 2 fadenförmige, 5-gliedrige Fühler, sowie mehrere lange und kurze „Sinnesborsten“ und vorn eine kurze, zylindrische Fortsetzung, den „Saugrüssel“ mit den nur beim Gebrauch sichtbar werdenden Mundteilen (Fig. 8a). Letztere bestehen aus einem einstülpbaren, kurzen Kegel, dessen Vorderrand von scharfen Häkchen eingefaßt ist. In diesem Kegel liegt ausgestreckt ein Zylinder, der in Ruhe zum Teil nach innen handschuhfingerförmig eingezogen wird, die Stachelscheide (Fig. 4 u. 5). Die scharfen Zähnchen desselben bohren sich nach Art des bekannten Kronenbohrers durch die menschliche Hautepidermis, die Häkchen stülpen sich dann nach außen um und halten dadurch die Stachelscheide unverrückbar fest. Nach unten erweitert sich im eigentlichen Kopfteil diese Stachelscheide in einen länglichrunden Beutel mit starker Muskulatur, der gegebenenfalls nach Art eines Gummiballons durch Zusammendrücken und Wiederausdehnen als Saugpumpe wirkt und das gesaugte Blut nach dem Magen drückt. In die Stachelscheide reicht ein aus 2 Halbröhren sich zusammensetzender Stachel (Fig. 5a), der hinter dem Schlundganglion beginnt und durch eine kräftige Muskulatur nach vorn gedrückt werden kann. Der Vorgang der Blutentnahme gestaltet sich nun, wie folgt:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdem sich der fleischige Kegel der Stachelscheide mit seinen Häkchen in die Haut eingebohrt hat, tritt aus der Oeffnung des Kegels

Fig. 3.

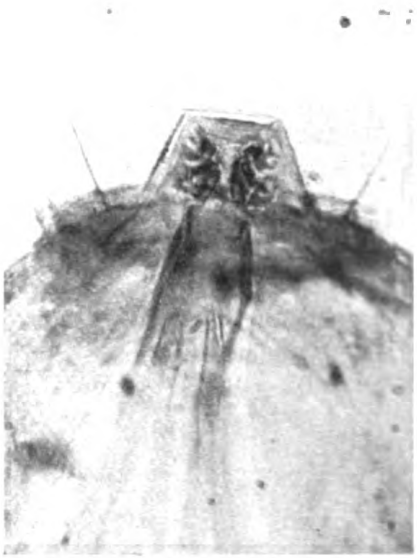


Fig. 4.

Saugpumpe
Fig. 5.

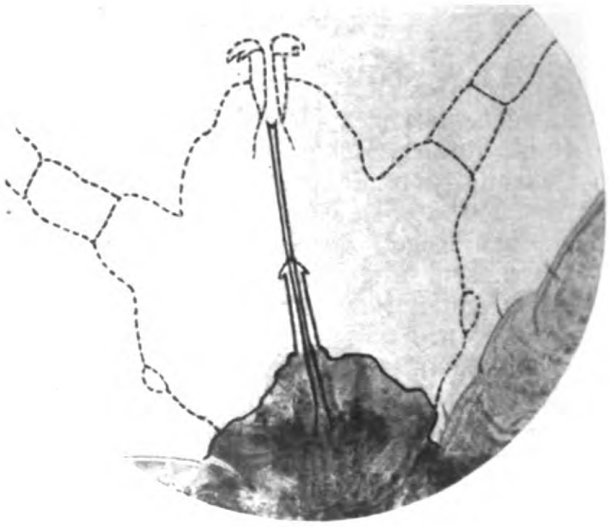


Fig. 5a.

Fig. 3. Weibchen in gesättigtem Zustand mit gefülltem Magen und Darmkanal (Tracheen deutlich sichtbar).
Fig. 4. Stachelscheide eingezogen.
Fig. 5. Stachelscheide mit ausgestülpten Häkchen (am unteren Rande die ballonförmige Saugpumpe sichtbar).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der zarte Stachel hervor und wird in die Haut versenkt. Dieser Stachel dient zugleich als führende Rinne beim Saugakt. Die Annahme, daß die Laus beiße oder fresse, trifft demnach nicht zu; es findet vielmehr ein richtiges Einbohren statt. Am Thorax, der ziemlich

Fig. 6.

Fig. 7.

Fig. 8a.

Tracheensystem

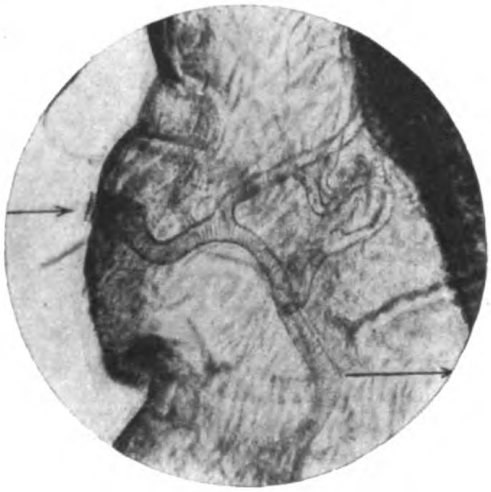


Fig. 8b.

Fig. 6. Klaue mit Borsten (messerklingenartig zusammenklappbar, kurz vor der Häutung).

Fig. 7. Abdomen eines vollgesogenen Weibchen. Der hellere längliche Fleck am oberen Rande ist die Speicheldrüse. Außerdem sind bereits entwickelte Eier sichtbar.

Fig. 8a. Tracheensystem.

Fig. 8b. Trachee.

Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

klein ist, befinden sich 3 Paar Klammerfüße. Jedes Bein besitzt einen 2-gliedrigen Tarsus und endigt in eine kräftige Klaue, welche mit großen, starken Borsten umgeben ist (Fig. 6). Die Klauen sind beim Weibchen an den 6 Füßen gleichgroß, während sie beim Männchen am ersten Fußpaar größer sind wie an den übrigen (zur Begattung dienend). Das spärlich beborstete Abdomen weist 8 Segmente auf; man sieht darin deutlich einen mit Blut mehr oder weniger gefüllten, sackartigen Darm (Magen), an dessen Ende sich ein weiteres darmähnliches Gebilde (Mastdarm) anschließt (Fig. 7). Ersterer macht fortgesetzt peristaltische Bewegungen, wobei sich allmählich aus dem aufgenommenen Blut schwarze

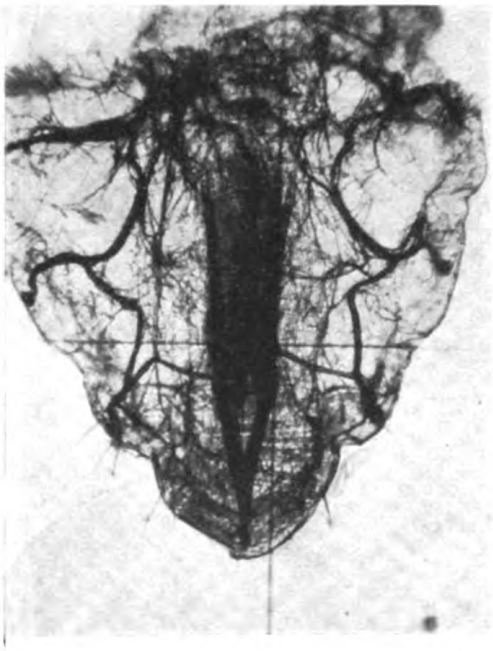


Fig. 9a.

Männlicher Sexualapparat
Fig. 9b.

Fig. 9a. Hinterleib mit deutlich sichtbarem Tracheensystem und Begattungsorgan.
Fig. 9b. Männlicher Sexualapparat mit Spitze nach außen.

Körner ausscheiden, welche in den Mastdarm gedrückt und von dort als strichförmige Massen entleert werden. Den ganzen Körper durchlaufen gefäßartig in allen Richtungen die wunderbar fein ausgebildeten Tracheen (Luftröhren) (Fig. 8a). Sie stellen Röhren von spiralförmiger Struktur dar (Fig. 8b), deren Ausgangsöffnungen zum Schutz vor Verunreinigungen mit feinsten Wimpern umgeben sind. Die Männchen besitzen im Abdomen einen deutlich sichtbaren, spitz-konisch zulaufenden Begattungsapparat (Fig. 9a u. 9b), der im normalen Zustand im Abdomen versteckt liegt, aber nach außen vorgestülpt werden kann (natürlich auch Hoden etc.). Die Weibchen haben im Hinterleibe mächtig entwickelte Eierstöcke (Ovarien), mit Anhangsdrüsen für Schalenbildung und Kitterzeugung (Fig. 7 u. 10). Bei der Rückenlage des Tieres hebt sich aus dem durch das aufgenommene Blut rotbraun gefärbten Darm (Magen) ein rundliches, weißes Organ von bei den verschiedenen Individuen wechselnder Gestalt ab, das mit dem Darm fest verwachsen scheint.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

weil es an den peristaltischen Bewegungen desselben teilnimmt. Es ist dies die schon von Friedenthal erwähnte Speicheldrüse (Fig. 7).

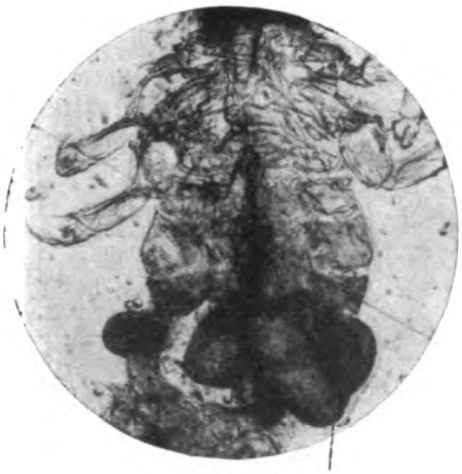


Fig. 10.

Fig. 11.

Fig. 12.

Fig. 13.

Fig. 10. Weibliches Abdomen aufgeschnitten mit entwickelten Eiern (Nissen).
Fig. 11. Junges weibliches Tier vollgesogen mit Blut (hat sich eben gehäutet, siehe Fig. 16).
Fig. 12. Aus dem Ovarium herausgedrückte Eier.
Fig. 13. Eiröhren des Ovariums.

Die Kleiderlaus siedelt sich fast ausschließlich in den Kleidern und der Bettwäsche an und geht eigentlich nur, wenn sie Nahrung zu sich nehmen muß, in der Regel zweimal täglich, an die Blutentnahmestelle. Während sie mit ihrem Saugrüssel das Blut aufnimmt, scheidet sie aus den Speicheldrüsen einen Saft aus, welcher die Blutgerinnung verhindert

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und vermutlich die Ansteckungsstoffe des Fleckfiebers enthält; denn man hat beobachtet, daß frisch infizierte Läuse erst nach 4—5 Tagen Fleckfieber auf Affen mit Erfolg übertragen, wahrscheinlich, weil während dieser Zeit das Fleckfiebergift aus dem resorbierten Blut in die Speicheldrüsen gelangt ist. Wenn berichtet wird, daß man Läuse am Körper des Menschen selbst gefunden hat, so kann dies nur dadurch erklärt werden, daß man sie beim Saugen überrascht hat. Mit Vorliebe saugen sie am Nacken und Rücken des Menschen. Legt man eine hungernde Laus auf den nackten Arm, so sieht man unter dem Mikroskop, wie der Darmkanal (Magen) des Tieres sich rot färbt und prall füllt (Fig. 11). Die angebohrte Stelle verursacht heftigen Juckreiz, der zum Kratzen veranlaßt.

Fig. 14.

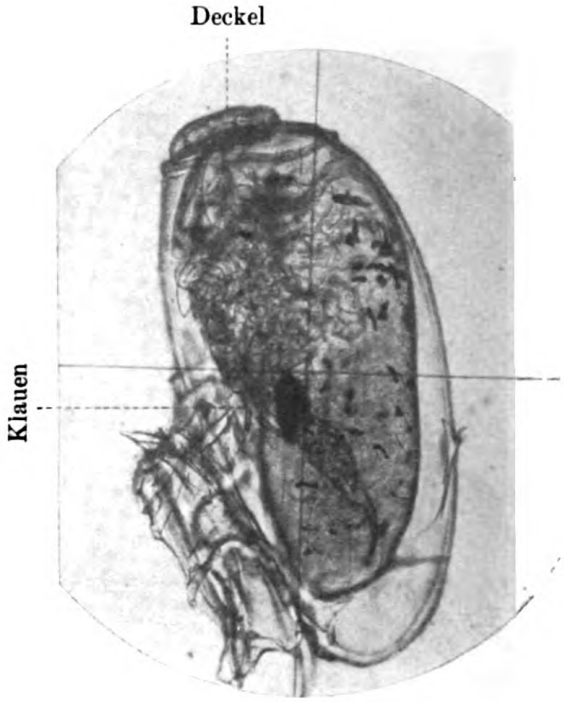


Fig. 15.

Fig. 14. Ziemlich entwickeltes Ei.
Fig. 15. Ei mit vollentwickeltem Embryo kurz vor dem Ausschlüpfen.

Das Weibchen legt nach der Begattung 60—80 Eier (Nisse). Nach Leeuwenhoek kann es in 8 Wochen 5000 Nachkommen zur Welt bringen! Es gelang uns hier, interessante Beobachtungen zu machen. Die Eier liegen in Eiröhren (Fig. 12 u. 13) und werden nach Fertigstellung von einem in Anhangsdrüsen gebildeten Leim (Kitt) überzogen (Fig. 12 u. 13). Die Eier machen ihre ganze erste Entwickelung im Eileiter durch. Durch geeignete Färbungsmethoden hebt sich die Leimsubstanz deutlich von den darin eingebetteten Eiern ab. Beim Ausstoßen der Eier klebt sie an den Haaren, Fasern usw. der Kleidung und verkittet beim Eintrocknen die Nisse so fest an die Unterlage, daß man eher die Stoffaser zerreißen, als die Nisse davon entfernen kann. Die Eier sind gedeckelt, auf dem Deckel befindet sich die sogenannte Mikro-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

pyle, die einen Reusenapparat zum Durchlaß des Samenfadens besitzt. Vor dem Ausschlüpfen sitzt das Läuschen mit dem ausgebildeten Kopf nach der Mikropyle zu, Füße mit den Klauen am Körper angedrückt, in dem idealen Säuglingsheim, dessen Giebel durch den Kopf schließlich aufgestoßen wird (Fig. 14 u. 15). 7—8 Tage nach der Eiablage kommt das junge Tier herausspaziert. Es ist nach einer dreimaligen Häutung in 15—18 Tagen geschlechtsreif. Man findet gelegentlich der mikroskopischen Untersuchung häufig ganze Panzer, an denen oft noch die Beine mit den Klauen zu erkennen sind (Fig. 16). In Abbildung No. 6 ist deutlich die neue Klaue in der alten, die sich schon stark abgehoben hat, sichtbar. Die tote Laus wird nach einiger Zeit durch Verhornung der Chitinschicht dunkelrot bis schwarz, das untrüglichste Zeichen, daß sie unschädlich geworden. Die Ablage der Eier wird von dem Weibchen sofort eingestellt, wenn es in Gefangenschaft kommt, weil es in unnatürliche Verhältnisse versetzt wird. Es ist uns aber gelungen, durch schwache Betäubung und Bestrahlung ein kräftiges Weibchen zum Ablegen einer Nisse zu bringen.

Fig. 16. Die abgestoßene Chitinhülle des in Fig. 11 abgebildeten Weibchens.

Die in der Literatur sich ständig wiederholende Behauptung, daß die Kleiderlaus nach 3 Tagen verhungere, fand ich nicht bestätigt. Dies trifft nur von Läusen zu, die sich bereits längere Zeit im Hungerstadium befinden, während gesättigte Läuse wochenlang, z. B. in Tornistern, ohne Nahrung leben können. Sie dürfen nur keinen zu hohen Temperaturschwankungen ausgesetzt werden. Bei mäßiger Kälte bis —12° C erstarrt die Laus, ohne hierbei zugrunde zu gehen, denn das anscheinend tote Tier beginnt, in die Wärme gebracht, sofort wieder Leben zu zeigen. Nur ganz tiefe Temperaturen, wie sie bei uns im Winter kaum vorkommen, wirken tödlich. Die in die Literatur übergegangene Angabe, daß die Kleiderlaus bei 35° C Wärme zugrunde gehe, bedarf einer Korrektur. Trockene Hitze von 40° C tötet die gesättigte Laus in 6 Stunden (die hungernde in 2 Stunden), bei 45° C in $2^1/_2$—3 Stunden, bei 50° C in 1 bis $1^1/_2$ Stunden, bei 65° C in 15 Minuten (die hungernde sofort). Bei den Nissen findet bei 50° C in 3 Stunden, bei 65° C in $1^1/_4$ Stunden, bei 85° C in 10 Minuten eine derartige Veränderung statt, daß sie (durch den Tod des Embryos) dauernd geschädigt sind (Koagulieren des Inhalts).

Die vorstehenden Angaben sind von großer Wichtigkeit, weil von den verschiedensten — auch amtlichen — Stellen der Vorschlag gemacht wurde, die Kleiderläuse durch mäßige Kälte oder Wärme (von 35° C) abzutöten.

Bringt man eine Laus in eine Wasserstoffsuperoxydlösung, so erfolgt eine immense Entwickelung von Sauerstoff, weil die Laus wie ein organisches Ferment wirkt, über dessen katalytische Wirkung ich an anderer

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Stelle berichtet habe. Interessant ist hierbei der Umstand, daß sie sich in diesem „Sauerstoffbade“ sehr wohl zu fühlen scheint, weil die Tracheen sich mit Sauerstoff füllen. In einer Mischung aus Aether, Spiritus und H_2O_2 sah ich sie noch nach 6 Stunden lebhafte Bewegungen ausführen, während andere in der gleichen Mischung ohne H_2O_2 verendet waren.

Ueber die absolute Lebensdauer der Kleiderlaus und der Nisse haben wir Versuche angestellt, die noch nicht zum Abschluß gelangt sind. Bei der Bekämpfung der Läuse durch stark riechende Substanzen scheint die Verstopfung der Tracheen das wirksame Agens zu sein. Die Chitinschutzhülle des Eies zeigt sich recht widerstandsfähig gegen Wasserverdunstung und chemische Eingriffe, nicht aber gegen hohe Temperatur.

Fig. 17.

Fig. 18.

Fig. 17. Klaue in der Häutung begriffen.
Fig. 18. Weibchen mit Eiern.

Letztere ist das sicherste Mittel, um Läuse und Nisse abzutöten.

Die Wirkung der chemischen Bekämpfungsmittel nur im verschlossenen Reagensglas festzustellen, halte ich, wie bereits gesagt, nicht für beweisend; es kann sich hierbei nur um relative Giftigkeitsproben handeln. Ich habe derartige Versuche so angestellt, daß eine gesättigte, starke Laus mit Harzlösung am Objektträger leicht angeklebt, dann das zu untersuchende Mittel in die Nähe gebracht und die Wirkung unter dem Mikroskop festgestellt wurde. Die ätherischen Oele sind in erster Linie als Vertreibungsmittel zu bewerten, da die Läuse erst nach längerer Zeit, und wenn sie sich ständig im Dunstkreis des Oeles befinden, abgetötet werden, während die Eier entwickelungsfähig bleiben. Die Wirksamkeit der ätherischen Oele zeigt folgende Skala: Gaultheriaöl, ätherisches Kampferöl, Bergamottöl, Fenchelöl, Eucalyptusöl, Rosmarinöl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zusammenstellung der chemischen Bekämpfungsmittel:

a) Läuse vertreibend:	b) Läuse vernichtend:	c) Wirkungslos:
1) Aetherische Oele,	1) 3-proz. Kresolpuder,	1) Formaldehyd,
2) Menthol,	2) Schweflige Säure,	2) Acethylen,
3) Terpentinöl,	3) Quecksilbersalben (Vorsicht!),	3) Leuchtgas.
4) Perubalsam,	4) Schwefeläther, } feuergefährlich!	
5) Karbolwasser,	5) Benzin, } feuergefährlich!	
6) gefällter Schwefel,	6) Benzol, } feuergefährlich!	
7) Tabakbrühe,	7) Petroleum, } feuergefährlich!	
8) Schwarzer Pfeffer,	8) Schwefelkohlenstoff, } feuergefährlich!	
9) Fettsäuren.	9) Kresolseifenlösung,	
	10) Tetrachlorkohlenstoff,	
	11) Sublimatlösung 1 ‰,	
	12) Naphthalin,	
	13) Anisol[1]) (Methyläther des Phenols),	
	14) Dichlorbenzol.	

Nach unseren Erfahrungen möchten wir für die Soldaten im Felde eine Lösung von Anisol in Tetrachlorkohlenstoff 1 : 9 und Naphthalin- bzw. Kresolpuder empfehlen. Naphthalin ist billig und in großen Mengen zu haben. Von anderer Seite behauptete Schädigungen der Augen durch Naphthalin haben wir nicht beobachtet. Verlauste Kleider und Wäsche werden am besten mit Hitze behandelt (Dampfapparate, Backöfen, Bügeleisen — wir benutzen hier Dallieisen mit Glühstoff —).

Für die Desinfektion der Baracken eignet sich nach unseren Beobachtungen am besten die Entwickelung von schwefliger Säure aus Stangenschwefel (arsen- und selenfrei) in den Verbrennungsöfen „Hya" nach Professor v. Walther-Dresden (Preis 15—20 Mark). Wir haben hier mit Erfolg Baracken von ca. 1500 cbm Rauminhalt mit 50 Kilo Stangenschwefel desinfiziert, wobei wir die verlausten Kleider und Wäsche der Gefangenen im Raume aufgehängt haben. Die schweflige Säure desinfiziert vorzüglich, wenn

1) die Entwickelung schnell und in großen Mengen erfolgt,
2) die Einwirkung der SO_2 auf mindestens 4 Stunden bemessen wird,
3) die Kleidungsstücke und die Wäsche so ausgebreitet werden, daß die SO_2-Dämpfe überallhin gelangen können.

Die mikrophotographischen Aufnahmen unserer Präparate verdanken wir der Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. Weber-Schwepnitz, welcher uns auch mit wertvollen Ratschlägen unterstützte.

---

1) Anisol wirkt im Anfang betäubend, sehr bald aber tödlich. Da es konzentriert die Haut angreift, muß es beim Gebrauch stark verdünnt werden!

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ein Vorschlag zur Materialersparnis bei bakteriologischen Untersuchungen.

[Aus dem k. k. serotherapeutischen Institut in Wien (Vorstand Hofrat Prof. Dr. R. Paltauf).]

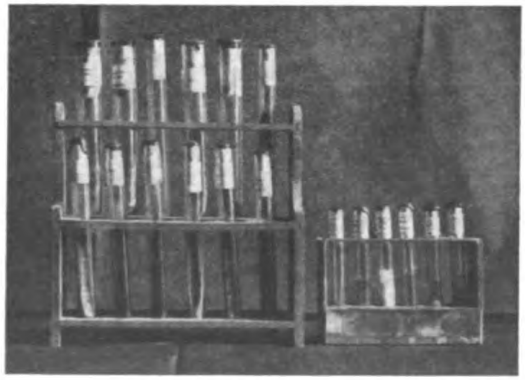
Von Dr. **Hermann Jaffé.**

Mit 1 Figur im Text.

Bei Massenuntersuchungen erfährt die Verwendung von Differentialnährböden eine erhebliche Einschränkung, doch wird man sie, namentlich in zweifelhaften Fällen, nicht vollständig vermissen wollen. Bei den zahlreichen Untersuchungen in Kriegszeiten ist auch im bakteriologischen Laboratorium größte Sparsamkeit am Platze. Ich möchte deshalb den Vorschlag machen, die differentialdiagnostischen Nährböden in ganz geringen Mengen zu verwenden, was um so leichter ist, da sie ja in der Regel mit Reinkulturen beimpft werden.

Statt der üblichen großen Eprouvetten empfehle ich kleine Röhrchen, wie sie auch zur Blutentnahme für die Widalsche oder Wassermannsche Reaktion verwendet werden. Ich gebrauche Röhrchen von ca. 8 cm Länge und 1 cm Durchmesser und fülle sie mit 1 ccm Nährmedium, einer Menge, die vollkommen genügt, um die biologischen Eigenschaften eines Stammes zu prüfen. Neben der Ersparnis an Material ist auch der geringe Raum, den diese Röhrchen einnehmen, ein Vorteil, der namentlich in Feldlaboratorien in Betracht kommt, wo dem Bakteriologen oft nur ein verhältnismäßig kleiner Thermostat zur Verfügung steht. Schließlich sind die kleinen Röhrchen viel weniger zerbrechlich als große Eprouvetten. Es erscheint daher empfehlenswert, auch zum Versenden von Kulturen die kleinen Röhrchen zu wählen.

Ein besonderer Vorteil bei der Verwendung einer geringeren Nährbodenmenge liegt darin, daß die durch den betreffenden Bakterienstamm hervorgerufene charakteristische Veränderung des Nährmediums in der Regel früher zu beobachten ist als bei Einsaat derselben Bakterienzahl in die übliche Nährbodenmenge.



Vergleich zwischen den Miniaturröhrchen und den bisher üblichen großen Eprouvetten.

Für Milchzuckeragar, Traubenzuckeragar, Lackmusmolke, Milch, Bouillon und die Barsiekowschen Lackmusnutrosezuckerlösungen wird man mit den kleinen Nährbodenmengen stets auskommen. Für die Barsiekowschen Lösungen und für Lackmusmolke müssen die kleinen Röhrchen aus Jenaer Glas sein, weil andere Glassorten Alkali abgeben und den Nährboden unbrauchbar machen. Auch kleine Schrägagarröhrchen kann man ver-

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wenden, wenn man einen Stamm aufbewahren will, oder wenn man sich bei der Identifizierung eines Stammes der mikroskopischen Agglutination bedient. Zur Untersuchung der verschiedenen Dysenteriestämme kann man auch den Lackmuszuckeragar in den kleinen Röhrchen zum schrägen Erstarren bringen und mit der betreffenden Kultur beimpfen.

Vom Králschen Laboratorium (Wien, IX., Zimmermanngasse 3) werden abgegeben (vgl. obenstehende Abbildung):

I. Miniaturnährböden in Serien zu 6 Röhrchen, enthaltend:
1 Röhrchen Lackmusnutrose-Mannitagar (schräg)
1 „ Neutralrotagar (oder Traubenzuckeragar)
1 „ Lackmusmolke
3 „ Nutrosenährböden (nach Barsiekow):
a) Lackmusnutrose-Mannitzuckerlösung
b) „ -Milchzuckerlösung
c) „ -Traubenzuckerlösung
Preis einer Serie: 1 K 60 h.
„ „ „ samt Gestell: 2 K 20 h.

II. Miniaturnährböden einzeln:
Der Preis jedes Röhrchens unseres Nährbodenverzeichnisses ermäßigt sich um 10 h gegenüber den bisherigen Preisen.

Beispielsweise:

1	Röhrchen	Schrägagar	20 h
1	„	Bouillon	15 h
1	„	Milch	10 h
1	„	Gelatine	20 h
1	„	Löffler-Serum	30 h
1	„	Serumagar	30 h
1	„	Zuckeragar	25 h

Nachdruck verboten.

Eine neue Vorrichtung für rasches und billiges Arbeiten bei Massenuntersuchungen auf Cholera.

[Aus dem staatlichen Laboratorium für medizinische Diagnostik in Triest.]

Von **Jaromir Gottlieb Markl.**

Mit 1 Figur im Text.

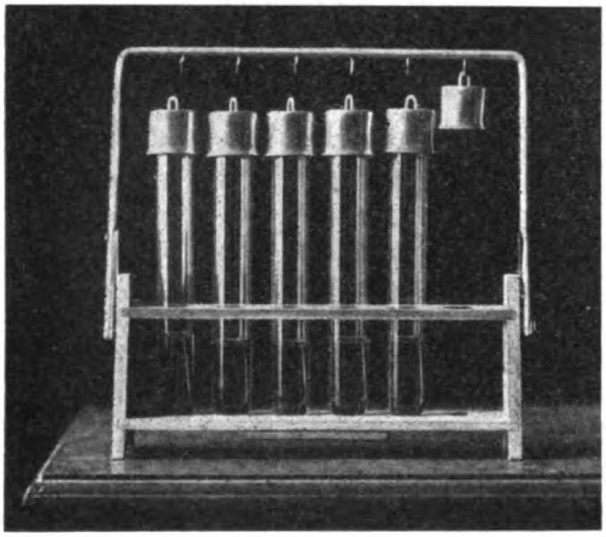
Bei gehäuften Untersuchungen auf Cholera und ungenügendem Personale, wie es wohl überall der Krieg mit sich bringt, erscheint jede Zeitersparnis beim Untersuchungsgange willkommen. Von diesem Standpunkte ausgehend, haben wir in unserem Laboratorium, das gegenwärtig auch für die politische Verwaltung und die Spitäler des Roten Kreuzes tätig ist, bei der Anreicherung im Peptonwasser bei Massenuntersuchungen auf Cholera eine kleine Vorrichtung eingeführt, die viel rascheres und billigeres Arbeiten als bisher gestattet.

Die Einrichtung ist aus der Abbildung ersichtlich:

Die Eprouvetten werden statt mit Watte mit Aluminiumkapseln geschlossen, die haltbar und in trockener wie in feuchter Hitze gut zu sterilisieren sind. Die Kapsel wird beim Arbeiten auf dem über dem Röhrchen angebrachten Haken aufgehängt und das Röhrchen beimpft.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Beim Einstellen desselben wird die Kapsel vom Haken abgenommen und das Röhrchen so wieder geschlossen. Die Lagen der Röhrchen sind fortlaufend beziffert, so daß man sich das Signieren erspart. Der Bügel mit den Häkchen kann umgelegt werden, wodurch das Stativ niedriger wird und das Einstellen der beimpften Eprouvetten in den Brutschrank gestattet.



So gestaltet sich das Arbeiten viel bequemer und rascher, nicht zuletzt auch billiger, da Watte zum Verschlusse der Röhrchen gespart wird, ebenso das umständliche Auf- und Zustöpseln, das Signieren der Röhrchen usw.

Das Stativ, das von dem Vorstand des Laboratoriums angegeben ist, wird von Dümler, Wien IX, Garnisongasse 4, erzeugt und zu mäßigem Preise abgegeben. Jedenfalls ist die geringe Ausgabe für die Anschaffung durch die beträchtliche Ersparnis an Baumwolle bald eingebracht, und es ist zu hoffen, daß die neue Vorrichtung in bakteriologischen Laboratorien allgemein Anklang finden wird.

Nachdruck verboten.

Ein neuer Elektivnährboden für Typhusbacillen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Greifswald (Direktor: Prof. Dr. P. H. Römer).]

Von **K. E. F. Schmitz,**
z. Z. stellvertretender Direktor des Hygienischen Instituts.

Es ist schon öfters die Beobachtung gemacht worden, daß es Typhusstämme gibt, die bei der Herauszüchtung aus dem Stuhl außerordentlich schwer zur Kultur gebracht werden können. Ich brauche hier nicht darauf hinzuweisen, von welch weittragender Bedeutung es ist, wenn z. B. Bacillenträgeruntersuchungen negativ ausfallen, weil es sich gerade zufällig um einen solchen schwer züchtbaren Stamm handelte.

Aus rein praktischen Gründen schon muß es daher unser Bestreben sein, die zur Diagnose benutzten Nährböden so zu gestalten, daß dieselben eine möglichst große Anreicherungskraft auch für die schlecht wachsenden Stämme besitzen.

Goebel hat vor einiger Zeit in dieser Zeitschrift, Bd. 75, No. 5/6, angegeben, daß ein solcher Typhusstamm, der von ihm beobachtet worden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

war, lediglich auf Endo-Nährboden zu günstigem Wachstum zu bringen war, während er auf den sonst üblichen Nährböden fast gar nicht wuchs. Ich weiß nicht, ob alle die schlecht wachsenden Typhusstämme dieses eigentümliche Verhalten zeigen würden, und so entschloß ich mich, einen Faktor zu suchen, der, jedem Nährboden zugesetzt, diesem besonders günstige Kulturbedingungen für Typhusbacillen gäbe. Da ich nun die Beobachtung gemacht hatte, daß solche schwer züchtbaren Typhusbacillen gute Kulturen gaben, wenn man sie auf Loeffler-Serum züchtete, so kam mir der Gedanke, das Serum zur Anreicherung der Typhusbacillen zu benützen. Eine einfache Ueberlegung führte mich auch zu der Erkenntnis, daß die wachstumbegünstigenden Nährstoffe in dem Loeffler-Serum nicht etwa in dem hitzekoagulierten Teil des Serums, sondern vielmehr in dem nicht erstarrten Teil zu suchen seien, denn auch in dem Kondenswasser des Serumröhrchens wuchsen die Bacillen üppig. Damit war aber die Möglichkeit gegeben, diese gute Kultur bringenden Nährstoffe in den durchsichtigen Agarnährboden zu übertragen.

Ein einfacher Versuch zeigte sofort die Richtigkeit der Berechnung. Ein mit Serum angesetzter Agar, von dem nach Erhitzung das koagulierte Eiweiß abfiltriert wurde, erwies sich als ganz hervorragender Nährboden für einen solchen schlecht züchtbaren Typhusstamm. Dieser bildete hier, wie auf dem Loeffler-Serum selbst, dicke Kolonieen, während er auf dem gewöhnlichen Agar kaum sichtbar wuchs. Die weiteren, in den nachstehenden Versuchen geschilderten Erfolge mit diesem Prinzip glaube ich, hoch genug anrechnen zu dürfen, um diese Modifikation der Typhusdiagnose zu empfehlen. Ganz besonders aber auch noch deshalb, weil die nach der weiter unten beschriebenen Art angefertigten Nährböden sich wesentlich billiger stellen, als die auf bisher gebräuchliche Art verfertigten. Ich möchte hier noch bemerken, daß auch gewöhnliche, auch auf anderem Agar gut wachsende Typhusstämme auf dem neuen Agar ein weit besseres Wachstum zeigen. Auch auf den mit diesem Agar gemachten Diagnoseplatten sind die Typhuskolonieen viel dicker und größer als auf den gebräuchlichen.

Herstellung des Serumagars.

Zuerst wurden die Nährböden so angefertigt, daß zu dem verwendeten 3-proz. Agar ungefähr 20 Proz. Hammel- oder Rinderserum zugegeben wurden. In Anlehnung jedoch an die in dieser Zeitschrift erschienene Arbeit von Szász über die Verwertung des Blutes zur Nährbodenbereitung gingen wir dann zu folgender Herstellung über: Es wurden vom Schlachthofe, ohne besondere Vorsichtsmaßregeln, etwa 7—8 l Rinderblut bezogen. Das Serum dieses Blutes wurde im Laboratorium abgegossen und zur späteren Verwendung zurückgestellt. Sodann wird der Blutkuchen gewogen und die doppelte Menge Wasser hinzugetan. Dann wird das Gemisch gekocht. Hierbei ist zu beachten, daß die Erhitzung wohl unter ständigem Rühren geschehen muß, daß man sich aber hüten muß, den Blutkuchen zu sehr zu zerquetschen, weil die entstehende Bouillon zu schwer abzufiltrieren ist, wenn die Gerinnselstückchen ganz zerfetzt sind. Nachdem etwa 5—10 Minuten im Kochen gehalten wurde, wird die Flüssigkeit am besten zuerst durch ein Tuch, dann durch Watte oder Glaswolle abfiltriert. Falls sich in

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Brühe noch geringe Trübungen zeigen sollten, so schadet das weiter nichts, da dieselben später vollständig herauskommen. Sodann gibt man zu der Bouillon Pepton und Nutrose in den üblichen Mengen und schließlich etwa 3 Proz. Agar zu. Wenn letzterer ganz gelöst ist, wird das zu Anfang zurückgestellte Serum unter ständigem Rühren zugesetzt und noch einmal kurz aufkochen gelassen. Der nun fertige Agar wird in Flaschen mit Patentverschluß abgefüllt und einmal eine Stunde lang im strömenden Dampf sterilisiert. Oefteres Sterilisieren ist nicht zu raten, da hierdurch die gute Nährkraft leidet. Das zweimalige Sterilisieren, einmal, wie oben beschrieben, direkt nach der Herstellung und dann bei dem Flüssigmachen des Agars zum Gebrauch, ist auch vollkommen hinreichend.

Während beim Einfüllen in die Flaschen das Serumgerinnsel in der ganzen Flüssigkeit suspendiert ist, liegt es nach der Sterilisation als dicker Klumpen am Boden der Flasche. Alle Unreinigkeiten und Trübungen des Agars sind von ihm mit zu Boden gerissen. Damit sich aber das Serumgerinnsel gut zu Boden setzen kann, muß man den Agar möglichst langsam, d. h. also im geschlossenen Sterilisationsapparat, erkalten lassen. Auch empfiehlt es sich, bei der Sterilisation nicht zu stark zu kochen, da sonst durch die aufsteigenden Blasen das Serum immer unnötigerweise durcheinander gewirbelt wird. Zu den Nährböden wird nur der oben stehende, klare Teil benutzt.

Versuche.

Zu dem ersten der folgenden Versuche wurde ein schlecht wachsender Typhusstamm benützt, den wir zufällig aus einem der eingesandten Fälle mit großer Mühe herausgezüchtet hatten. Als Indikatorzusätze benutzte ich den altbekannten Drigalski-Conradi-Zusatz und den Kongorotzusatz, über dessen praktische Brauchbarkeit ich in No. 15 der Deutschen med. Wochenschrift 1915 berichtet habe.

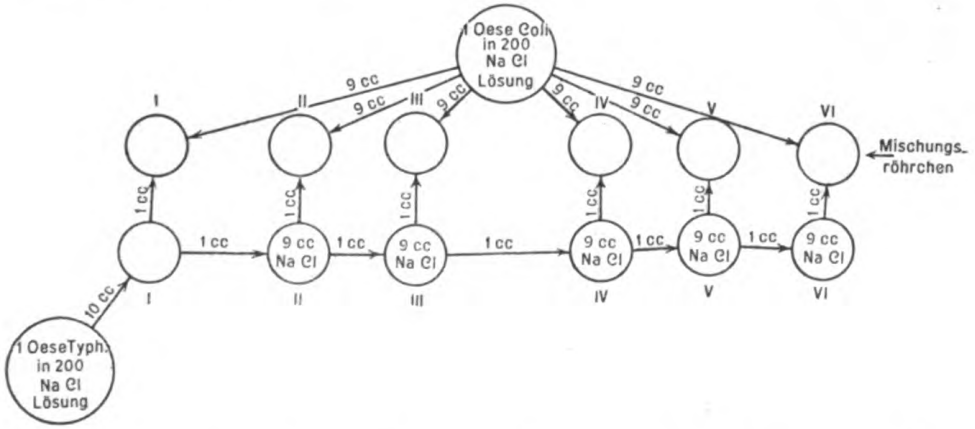
Die Anstellung des ersten Versuches geschah nun in folgender Weise:

Es wurden von Coli- und Typhusbacillen je eine Oese in ca. 200 ccm steriler NaCl-Lösung homogen verrieben. Sodann wurden von der Coli-Aufschwemmung 6 sterile Röhrchen mit je 9 ccm abgefüllt. In einer zweiten Reihe wurden in die Röhrchen II—VI je 9 ccm sterile NaCl-Lösung getan, sodann von der Typhusaufschwemmung 10 ccm in das erste. Von ihm wurde 1 ccm in das zweite (mit 9 ccm NaCl-Lösung) übertragen, nach guter Durchmischung von diesem in das dritte und so fort bis zum sechsten Röhrchen. Sodann wurde von jedem Röhrchen der 6 Typhusverdünnungen je 1 ccm in die entsprechenden Röhrchen der Coli-Aufschwemmung gebracht, so daß sich also in diesen jetzt überall gleiche Mengen Coli und fallende Mengen Typhus befanden, und zwar nahm die Konzentration des Typhus von Röhrchen zu Röhrchen um 10 ab. Im sechsten Röhrchen befand sich also die 100000-fach kleinere Dosis Typhusbacillen als im ersten, in allen aber die gleiche Menge Coli. Das Verhältnis der Typhus- zu den Coli-Bacillen in der Mischung I ist 1 : 10, in der Mischung VI 1 : 1000000 (s. Fig.).

Von den Mischungsröhrchen wurde sodann von jedem ein Tropfen auf die zu vergleichenden Nährböden ausgesät und dieser Tropfen immer auf 3 Platten des betreffenden Nährbodens mittels Platinspatels aus-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

geschmiert. Die Bezeichnung der Platten in den folgenden Tabellen ist nun so, daß die mit I, II, III usw. bezeichneten Platten den Röhrchen I, II, III usw. entsprechen. Die Buchstaben a, b, c geben an, ob die Platte die erste, zweite oder dritte der Schmierserie ist. Die Platten VI a, b, c z. B. sind also so hergestellt, daß auf die Platte VI a 1 Tropfen aus dem Mischungsröhrchen VI aufgetragen wurde und dieser Tropfen dann in der Reihenfolge a, b, c ohne Ausglühen des Platinspatels auf den Platten ausgestrichen wurde.



Mit dieser Methode wurden im ersten Versuch 4 Serien von Nährböden besät:

1) gewöhnlicher Drigalski-Conradi-Nährboden,
2) gewöhnlicher Kongorot-Nährboden,
3) Drigalski-Conradi-Nährboden **mit Serumzusatz,**
4) Kongorot-Nährboden **mit Serumzusatz.**

Es sei nochmals wiederholt, daß der zu diesem Versuch benutzte Typhusstamm ein kurz vorher herausgezüchteter, schwer wachsender Stamm war. Derselbe war nur auf Hammelserum zu besserem Wachstum zu bringen. Auf gewöhnlichem Agar wuchs er sehr spärlich. Um die zu dem Versuch benötigte Oese zusammenzubringen, wurden 2 ganze Agarkulturen gebraucht.

In der Tafel I ist das Aussehen der Platten nach 24 und 48 Stunden verzeichnet. Es läßt sich ohne weiteres ersehen, daß der neue Nährboden an elektiver Kraft dem nach dem gebräuchlichen Rezept hergestellten bedeutend überlegen ist. Nicht nur ließen sich bis zur Verdünnung VI sowohl in dem Serum-Kongo und Serum-Drigalski-Conradi die Typhusbacillen nachweisen, während dieser Nachweis in Verdünnung VI bei den gewöhnlichen Nährböden nicht mehr gelang, sondern auch in allen übrigen Verdünnungen waren die Typhuskolonieen auf den Serumnährböden bei weitem zahlreicher und üppiger, ja, meistens zeigte sich hier sogar ein dichter Rasen, während auf den gewöhnlichen Nährböden es kein einziges Mal zu dieser üppigen Wachstumsform kam. Dabei ist nochmals zu bemerken, daß die verschiedenen Nährböden mit derselben Nummer immer unmittelbar hintereinander aus derselben Pipette mit derselben Flüssigkeit besät worden waren. Außerdem zeigt uns die Tafel aber noch folgendes Beachtenswerte: Nach 48 Stunden sind die Drigalski-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tafel I.

1. Gewöhnlicher Drigalski-Conradi-Nährboden		2. Gewöhnlicher Kongorot-Nährboden	
nach 24 Stunden	nach 48 Std.	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden
I a) ganz rot	ganz rot	I a) dicht. Rasen schwarz	wie nach 24 St.
b) unzählb. rote Kolonieen	„ „	b) unz. Kolonieen schwarz	dgl.
c) „ „ „	„ „	c) „ „ „	„
II a) dicht. Rasen rot	„ „	II a) dicht. Rasen schwarz	„
b) unzählb. rote Kolonieen	„ „	b) „ „ „	„
c) viele rote wen. zweifelh. Kol.[1])	„ „	c) unzählbare schwarze viele verdächtige Kol.	„
III a) dicht. Rasen rot	„ „	III a) dicht. Rasen schwarz	„
b) unzählb. rote Kolonieen	„ „	b) unz. schwarze Kolonieen	„
c) viele rote wenige blaue	„ „	c) sehr viele schwarze viele rote	„
IV a) dicht. Rasen rot	„ „	IV a) dicht. Rasen schwarz	„
b) unzählbare rote	„ „	b) unz. schw., sehr v. rote	„
c) viele rote 5 blaue	„ „	c) viele schwarze **unzählb. rote Kolonieen**	„
V a) ganz rot	„ „	V a) unzählbare schwarze	„
b) unzählb. rote Kolonieen	„ „	b) „ „	„
c) viele rote zl. zahlr. blaue Kol.	„ „	c) viele schwarze viele rote Kolonieen	„
VI a) ganz rot	„ „	VI a) dicht. Rasen schwarz	„
b) unzählb. rote Kolonieen	„ „	b) unz. schwarze Kolonieen	„
c) „ „ „	„ „	c) „ „ „	„

3. Drigalski-Conradi-Nährboden mit Serumzusatz		4. Kongorot-Nährboden mit Serumzusatz	
nach 24 Stunden	nach 48 Std.	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden
I a) ganz rot	ganz rot	I a) sehr viele schwarze **dicht. Rasen rot**	wie nach 24 St.
b) sehr viele rote **sehr viele blaue**	„ „	b) zahlreiche schwarze **unzählb. rote Kolonieen**	dgl.
c) zahlreiche rote **unzählb. blaue Kol.**	„ „	c) zahlreiche schwarze Kol. **dicht. Rasen rot**	„
II a) zahlreiche rote Kolonieen **dicht. Rasen blau**	„ „	II a) sehr viele schwarze Kol. **dicht. Rasen rot**	„
b) zahlreiche rote **unzählbare blaue**	„ „	b) zahlreiche schwarze **unzählb. rote Kolonieen**	„
c) zahlreiche rote **unzählbare blaue**	„ „	c) zieml. zahlreiche schwarze **dicht. Rasen rot**	„
III a) zahlreiche rote **dicht. Rasen blau**	„ „	III a) dicht. Rasen schwarz **dicht. Rasen rot**	„
b) zahlreiche rote **unzählb. blaue Kol.**	„ „	b) dicht. Rasen schwarz **dicht. Rasen rot**	„
c) zahlreiche rote **dicht. Rasen blau**	„ „	c) unzählbare schwarze **dicht. Rasen rot**	„
IV a) zahlreiche rote **dicht. Rasen blau**	„ „	IV a) dicht. Rasen schwarz **dicht. Rasen rot**	„
b) zahlreiche rote **unzählbare blaue**	„ „	b) unzählbare schwarze **unzählbare rote**	„
c) zahlreiche rote **unzählbare blaue**	„ „	c) zahlreiche schwarze **dicht. Rasen rot**	„

1) Gesperrt
oder unzählbare oder Rasen Typhus.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3. Drigalski-Conradi-Nährboden mit Serumzusatz		4. Kongorot-Nährboden mit Serumzusatz	
nach 24 Stunden	nach 48 Std.	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden
V a) dicht. Rasen rot	ganz rot	V a) zahlreiche schwarze **dicht. Rasen rot**	wie nach 24 St.
b) zahlreiche rote **unzählbare blaue**	„ „	b) zahlreiche schwarze **unzählbare rote**	dgl.
c) zahlreiche rote **dicht. Rasen blau**	„ „	c) unzählbare schwarze	„
VI a) zahlreiche rote **dicht. Rasen blau**	„ „	VI a) zahlreiche schwarze **dicht. Rasen rot**	„
b) zahlreiche rote **unzählbare blaue**	„ „	b) zahlreiche schwarze **unzählbare rote**	„
c) zahlreiche rote **s. zahlreiche blaue**	„ „	c) zahlreiche schwarze **s. zahlreiche rote**	„

Conradi-Platten sowohl mit wie ohne Serumzusatz sämtlich rot, während der Kongorot-Nährboden auch noch nach 48 Stunden eine Abimpfung gestattete.

Der nächste Versuch wurde im wesentlichen in der gleichen Weise ebenfalls mit dem schlecht wachsenden Typhusstamm angesetzt, nur wurde die Ausgangsverdünnung der Typhusbacillen 10-fach größer gewählt als die der Coli-Bacillen, so daß die Typhuskonzentration in der Verdünnung I bereits hundertfach geringer war als die Konzentration des Coli. In der Verdünnung VI kamen also auf einen Typhusbacillus 10000000 Coli-Bacillen. Außerdem wurde bei diesem Versuch nur der Kongorot-Nährboden verwertet, da sich dieser ja in dem vorhergehenden Versuch dem Drigalski-Conradi-Nährboden wesentlich überlegen gezeigt hatte. Sodann fügte ich den beiden Versuchsnährböden Kongo und Serum-Kongo noch einen dritten an, ebenfalls einen Serum-Kongorot-Nährboden, dem aber, um die übermäßige Coli-Entwickelung zurückzuhalten, 0,6 Proz. Coffeinum purum zugesetzt worden war. Das Coffein ist ja bereits von Ficker zu seinem flüssigen Anreicherungsnährboden für Typhusbacillen zu eben demselben Zweck der Coli-Hemmung benutzt worden.

Die Tafel II zeigt uns als erstes wieder die gewaltige Ueberlegenheit des Serum-Nährbodens, denn während bei diesem die Typhusbacillen bis zur Verdünnung VI in ziemlich großer Zahl nachweisbar waren, gelang dieser Nachweis bei dem gewöhnlichen Kongorot-Nährboden nur bis zur Verdünnung III. Aber auch der Coffein-Nährboden zeigte sich als hervorragend brauchbar. Auf sämtlichen Plattenserien sind rote Kolonieen in großer Zahl aufgegangen, und erwiesen dieselben sich bei Weiterprüfung (Kultur und Agglutination), mit Ausnahme von einer Abimpfung auf Platte IVa, als Typhusbacillen. Bei dieser Platte IVa erwies sich die abgeimpfte Kolonie als Coli-Bacillus.

Da dieses Resultat mich sehr verwunderte, denn eine typische Schwärzung hatte ich auf keiner der Platten wahrnehmen können, so beschloß ich, einen nächsten Versuch anzustellen, um festzustellen, ob durch Hemmung einzelne Coli vielleicht nicht an einem spärlichen Wachstum, wohl aber an der Säurebildung gehindert wurden. Immerhin

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tafel II.

1. Gewöhnlicher Kongorot-Nährboden		2. Serum-Kongorot-Nährboden		3. Serum-Kongorot-Nährboden mit 3 Proz. Galle und 0,6 Proz. Coffein	
nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 24 Stunden	Kolonieen abgeimpft u. durch weitere Untersuch. (Kultur u. Agglut.) erkannt als:
I a) d. Rasen schwarz b) unzähl. schwarze Kol. viele rote c) der Rasen schwarz viele rote	ganz schwarz wie nach 24 Std. viel schwarze **Rasen rot**	I a) d. Rasen schwarz b) sehr viele schwarze Kol. **d. Rasen rot** c) sehr viel schwarze **sehr viele rote**	wie nach 24 Std. dgl. sehr viel schwz. **Rasen rot**	I a) **sehr viel rote Kol.** b) dgl. c) spärlich rote Kol.	Typhus-B
II a) d. Rasen schwarz b) unzähl. schwarze Kol. viele rote c) unzähl. schwarze viele rote	ganz schwarz wie nach 24 Std. dgl.	II a) d. Rasen schwarz b) dgl. viele rote c) sehr viel schwarze Kol. **d. Rasen rot**	wie nach 24 Std. ganz schwarz wie nach 24 Std.	II a) **sehr viel rote Kol.** b) spärlich rote Kol. c) fast 0	dgl.
III a) ganz schwarz b) unzähl. schwarze Kol. wenig rote c) viele schwarze **s. zahlreiche rote**	„ „ **roter Rasen**	III a) d. Rasen schwarz b) sehr viele schwarze Kol. **d. Rasen rot** c) sehr viele schwarze	dgl. „ „	III a) **kleiner Rasen rot** b) dgl. c) 0	„
IV a) ganz schwarz b) dgl. c) sehr viel schwarze Kol.	dgl. „ „	IV a) d. Rasen schwarz b) unzähl. schwarze Kol. **sehr viele rote** c) sehr viele schwarze **d. Rasen rot**	„ „ „	IV a) viele rote Kolonieen b) ca. 30 rote c) 0	Coli-B.
V a) ganz schwarz b) dgl. c) sehr viel schwarze Kol.	„ „ „	V a) d. Rasen schwarz b) unzähl. schwarze Kol. **sehr viele rote** c) ca. 150 schwarze	„ „ „	V a) viele rote Kol. b) sehr wenig rote c) 0	Typhus-B.
VI a) ganz schwarz b) sehr viel schwarze Kol. c) dgl.	„ „ „	VI a) d. Rasen schwarz **kleiner Rasen rot** b) d. Rasen schwarz c) ca. 150 schwarze Kol.	„ „ „	VI a) viele rote Kol. b) 0 c) 0	dgl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ist festzustellen, daß 5 von den 6 abgeimpften Kolonieen sich tatsächlich als Typhuskolonieen erwiesen hatten.

Eine solche Verhinderung bzw. Verzögerung des Kongofarbenumschlages war theoretisch durchaus möglich, denn, wie ich in der Veröffentlichung in der Deutschen med. Wochenschrift bereits hervorhob, geschieht dieser Farbenumschlag lange nicht so rasch wie der Lackmusumschlag. Wie ich dort schon ausführte, und was sich auch an dem hier geschilderten Versuch I wieder zeigte, ist das für die Typhusdiagnose mit dem gewöhnlichen Kongo-Nährboden durchaus kein Nachteil, sondern im Gegenteil ein Vorteil. Zur Bestimmung dieser Verhältnisse und auch, um festzustellen, bei welcher Coffeinkonzentration der Coli am meisten gehemmt würde, während Typhusbacillen noch gut wuchsen, besäte ich Serumkongo-Nährboden, und solchen mit verschiedenen 0,2 bis 0,6 Proz. Coffein und 3 Proz. Galle mit Coli, mit dem bereits mehrfach erwähnten, schlecht wachsenden Typhusstamm, einem Typhusstamm unserer Sammlung und mit Choleravibrionen.

Den Ausfall des Versuches zeigt folgende Tafel III:

Tafel III.

	A Ser.-Kongorot ohne Zus.	B Ser.-K. + Galle + 0,2 Coff.	C Ser.-K. + Galle + 0,4 Proz. Coff.	D Ser.-K. + Galle + 0,6 Proz. Coff.
Coli-Bacillen	dicht bew. schwz.	unz. schw. Kol.	fast 0	0
Ty.-Bac. m. schl. W.	zieml. zahlr. Kol.	dgl. wie A	dgl. wie A	dgl. wie A
„ „ g. W.	Rasen	sehr viele Kol.	dgl. wie B	spärliche Kol.
Choleravibrionen	dichter Rasen	dünner Rasen	fast 0	0

In der Wagerechten unter A, B, C sind die verschiedenen Nährböden aufgeführt, in der Senkrechten die verschiedenen Bacillenreinkulturen. Wir sehen, daß der uns zumeist interessierende Coli-Bacillus noch bei 0,2 Proz. Coffein sehr gut mit deutlichem Farbenumschlag wächst. Auf der Platte mit 0,4 Proz. Coffein zeigte sich fast kein Wachstum. Einige abgeimpfte Kolonieen waren Heubacillen. Coli konnte nicht entdeckt werden, und auch bei der Konzentration 0,6 Proz. Coffein war gar nichts gewachsen. Der erste Typhusbacillus wuchs auf allen Platten gleich gut, während der zweite durch das Coffein auf Platte D etwas gehemmt wurde. Die Choleravibrionen zeigten schon bei 0,2 Proz. eine starke Hemmung.

Zur Wiederholung dieses Versuches, sowie auch um genauer die benötigte Coffeinmenge einzustellen, wurde, wie Tafel IV zeigt, Typhus und Coli wieder auf gewöhnlichem Serumkongo und verschiedenen Coffeinnährböden ausgesät. Außerdem aber wurde ein Nährboden eingefügt, der bloß Gallezusatz enthielt, um festzustellen, ob die Galle wirklich von wesentlicher Bedeutung für die Zurückhaltung der Coli-, bzw. für das bessere Wachstum der Typhusbacillen wäre, und schließlich wurde nicht nur der Serumkongo-Nährboden, sondern auch der Serum-Drigalski-Nährboden mit denselben Zusätzen zur Aussaat gebracht, denn wenn wirklich die Säureproduktion der Coli durch den Coffeinzusatz vermindert würde, so müßte der leichte Umschlag des Lackmus gerade zum Nachweis solcher geringen Säuremengen brauchbarer sein als der Kongorotumschlag.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tafel IV.

Aussaat auf	von Typhusbacillen		von Coli-Bacillen	
	nach 24 Std.	nach 48 Std.	nach 24 Std.	nach 48 Std.
A. Ser.-Kongor.-N. ohne Zusatz	roter Rasen	roter Rasen	schwarz. Ras.	schwarz. Ras.
B. „ „ + 3 % Galle	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.
C. „ „ + Galle + 0,3 % Coff.	„	„	fein. schw. R.	d. schw. Ras.
D. „ „ + „ + 0,4 % „	„	„	g. fein. r. Ras.	kl. Ras. schw.
E. „ „ + „ + 0,5 % „	fein. rot. Ras.	guter Rasen	0	0
A. Ser.-Drig.-N. ohne Zusatz	bl. Rasen	bl. Rasen	roter Rasen	roter Rasen
B. „ „ + 3 % Galle	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.
C. „ „ + Galle + 0,3 % Coff.	fein. bl. Ras.	gut. bl. Ras.	kl. rot. Ras.	„
D. „ „ + „ + 0,4 % „	spärl. bl. Kol.	fein. bl. Ras.	0	0
E. „ „ + „ + 0,5 % „	fast 0	fast 0	0	0

Als erstes Ergebnis dieses Versuchs sehen wir auf Tabelle IV, daß der Zusatz von Galle allein weder den Coli nennenswert hemmt, noch das Wachstum des Typhusbacillus besonders steigert, so daß dieselbe ohne weiteres weggelassen werden kann. Ferner sehen wir, daß bis zur Konzentration von 0,4 Proz. Coffein der Coli-Bacillus noch spärlich wächst, bei 0,5 Proz. Coffein jedoch nicht mehr. Auch war wirklich nach 24 Stunden der Coli-Rasen (bei 0,4 Proz.) noch nicht ordentlich schwarz, jedoch konnte bei Durchsicht bereits eine schwärzliche Färbung festgestellt werden, die ohne weiteres eine Unterscheidung von Typhuskolonieen erlaubt. Der Typhusbacillus wuchs bis zur stärksten Coffeinkonzentration ziemlich reichlich, wo kein Coli-Bacillus mehr gedieh. Es läßt sich also mit Hilfe von genügendem Coffeinzusatz zum Serum-Kongo-Nährboden eine vollkommene Hemmung des Coli-Bacillus sowie ein gutes Wachstum des Typusbacillus erreichen.

Wenden wir uns nun zu dem zweiten Teil der Tabelle IV, so sehen wir wiederum, daß hier der Coli bereits bei 0,4 Proz. total gehemmt ist und eine deutlich hemmende Wirkung bereits bei 0,3 Proz. eintritt, ohne daß jedoch der Farbenumschlag irgendwie verändert wird. Andererseits zeigt sich jedoch, daß auch der Typhusbacillus bei der stärksten Coffeinkonzentration zwar nicht vollständig, jedoch ziemlich stark gehemmt war; bei 0,4 Proz. wuchs er befriedigend. Diese Hemmung der Typhusbacillen ist wohl vor allem auf Rechnung des Kristallvioletts zu setzen.

Im letzten Versuch wurden nun untereinander verglichen: 1) Serum-Kongo, 2) Serum-Kongo + 0,6 Proz. Coffein, 3) Serum-Drigalski ohne Kristallviolett, 4) Serum-Drigalski mit Kristallviolett und 5) Serum Drigalski mit Kristallviolett + 0,6 Proz. Coffein.

Es wurden wieder, wie in der oben beschriebenen Weise, 6 Mischungen gemacht, diesmal in Bouillon, und zwar 1 Oese Coli : 1000 ccm und 1 Oese Typhus : 1000 ccm. Die Mischung geschah in der oben angegebenen Weise, daß sich Typhus und Coli in dem ersten Röhrchen im Verhältnis wie 1 : 100 befanden. Wieder nach 24 und 48 Stunden wurden die Platten besehen und verdächtige Kolonieen abgeimpft und sodann durch Kultur und Agglutination verifiziert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Als erstes zeigt uns die Tafel V, daß der Kongorot-Nährboden dem Drigalski-Conradi-Nährboden mit und ohne Kristallviolett gewaltig überlegen ist. Während die Abimpfung von Typhusbacillen bei den Drigalski-Nährböden nur auf der Serie I gelang, konnte von dem Kongo-Nährboden bis zur sechsten Verdünnung abgeimpft werden. Das gleiche gute Resultat zeigten nun die Coffein-Nährböden. Sowohl bei dem mit Kongorot, als auch bei dem mit Drigalski-Zusatz versetzten Coffein-Nährboden konnten die Typhusbacillen bis zur VI. Verdünnung nachgewiesen werden, aber, und das läßt wieder den Kongo-Nährboden als wesentlich besser erscheinen, die Abimpfung der Typhusbacillen gelang bei dem Serum-Kongo-Coffein-Nährboden bereits nach 24 Stunden, bei dem Serum Drigalski-Coffein-Nährboden dagegen erst nach 48 Stunden. Durch die restlose Hemmung des Coli mittels der 0,6 Proz. Coffein ist der eine Grund der Unterlegenheit des Drigalski-Nährbodens, nämlich der zu starke Farbenumschlag des Lackmus, aufgehoben. Jedoch der zweite Grund, die stärkere Hemmung auch der Typhusbacillen, der, wie ich in der vorhergehenden Veröffentlichung über die beiden Nährböden gezeigt habe, die Diagnosenzahl des Drigalski-Nährbodens, gerade was die Zeit der Abimpfung betrifft, wesentlich verschlechtert, bleibt auch hier bestehen und ergibt auch hier wieder, wie damals, ein viel späteres Aufgehen der Typhuskolonieen.

Herstellung des Serum-Coffein-Nährbodens.

Ueber die Bereitung des Serumagars ist das Nötige bereits oben gesagt. Der Drigalski-Conradi-Zusatz wird zu diesem Serumagar in der üblichen Weise zugegeben.

Zur Bereitung des Kongorot-Nährbodens macht man sich am besten eine Mischung von Milchzucker mit Kongorot in Substanz im Verhältnis von 15 : 1 und gibt dann in den flüssigen Agar auf 100 ccm 1,5 g der Mischung. Dieselbe löst sich augenblicklich, und der leuchtend rote Nährboden kann nun sofort in die Petri-Schalen ausgegossen werden.

Soll zu den Nährböden Coffein zugesetzt werden, so kann man entweder das hierzu benötigte Coffeinum purum in der nötigen Menge dem Agar gleich vor der Sterilisation zusetzen, oder aber, und so sind wir fast immer vorgegangen, man gibt das Coffein erst dann zu, wenn man den Drigalski-Zusatz, bzw. den Kongorotzusatz zugibt. Immerhin ist es wertvoll, das Coffein auch dann vorher zu sterilisieren. Es ist dabei zu beachten, daß sich das Coffeinum purum in der Kälte erst in 80 Teilen Wasser löst, in heißem Zustande dagegen schon im Verhältnis 1 : 10 glatt gelöst wird. Um die genaue Menge des benötigten Coffeins jeder beliebigen Agarmenge zugeben zu können, bin ich darum folgendermaßen vorgegangen: Ich machte mir eine Coffeinaufschwemmung, die in einem Kubikzentimeter 0,1 g Coffeinum purum enthielt. Diese Aufschwemmung wurde mit dem zu verflüssigenden Agar in den Dampftopf gesetzt: Wenn dann der Agar flüssig geworden war, war auch das Coffein vollkommen gelöst und sterilisiert. Es brauchten dann nur zu 100 ccm Agar 6 ccm dieser Lösung zugesetzt zu werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tafel V.

1. Serum-Kongorot-Nährboden ohne Zusatz

nach 24 Stunden	Verdächtige Kolonieen abgeimpft u. festgestellt als	nach 48 Stunden	Verdächtige Kolonieen abgeimpft u. festgestellt als
I a) zahlreiche schwarze Kol. **d. Rasen rot**	Typhus	I a) unverändert wie nach 24 Std.	
b) wie a)		b) dgl.	
c) wenige schwarze **kleiner Rasen rot**		c) „	
II a) zahlreiche schwarze Kol. einzelne rote Kol.		II a) „	
b) wie a)		b) einzelne Kokken (rote undurchsichtige Kol.)	
c) **Rasen rot** sehr wenig schwarze Kol.		c) wie nach 24 Stunden	
III a) viele schwarze Kol. und Heubacillen		III a) dgl.	
b) dgl.		b) „	
c) „		c) „	
IV a) unzähl. schwarze Kol. **sehr viele rote**	Typhus	IV a) wie nach 24 Stunden	
b) ca. 50 schwarze Kol. **Rasen rot**	„	b) dgl.	
c) wenige schwarze Kol.		c) „	
V a) sehr viele schwarze Kol. **sehr viele rote**	„	V a) „	
b) ca. 50 schwarze Kol.		b) „	
c) einige schwarze Kol. **kleiner Rasen rot**		c) „	Typhus
VI b) sehr viele schwarze Kol. **sehr viele rote**	„	VI a) „	„
b) einige schwarze Kol.		b) „	
c) 4 schwarze Kol.		c) „	

2. Serum-Kongorot-Nährboden + 0,6 Proz. Coffein

nach 24 Stunden	Verdächtige Kolonieen abgeimpft u. festgestellt als	nach 48 Stunden	Verdächtige Kolonieen abgeimpft u. festgestellt als
I a) ca. 10 rote Kol.	Typhus	I a) **f. Rasen rot**	
b) 3—4 rote Kol.		b) viele rote Kol.	Typhus
c) 0		c) 0	
II a) ca. 50 rote Kol.	„	II a) von Heubac. überwuch.	
b) 2 rote Kol.		b) dgl.	
c) 0		c) 0	
III a) ca. 50 rote Kol.		III a) von Heubac. überwuch.	
b) 2 rote Kol.		b) dgl.	
c) 0		c) 0	
IV a) ca. 50 rote Kol.	Typhus	IV a) **sehr viele rote Kol.**	
b) ca. 10 rote Kol.		b) dgl.	Typhus
c) 0		c) „	
V a) ca. 100 rote Kol.	„	V a) **Rasen rot**	„
b) ca. 10 rote Kol.		b) **sehr viele rote Kol.**	
c) 0		c) 0	
VI a) ca. 50 rote Kol.	„	VI a) **sehr viele rote Kol.**	
b) 3 rote Kol.		b) dgl.	
c) 0		c) 0	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3. Serum Drigalski-Conradi-Nährboden mit Kristallviolett

nach 24 Stunden	Verdächtige Kolonieen abgeimpft u. festgestellt als	nach 48 Stunden	Verdächtige Kolonieen abgeimpft u. festgestellt als
I a) ganz rot		I a) ganz rot	
b) ca. 50 rote Kol. einige blaue	Kokken	b) wie nach 24 Stunden	
c) 50 rote Kol.		c) kleiner Strich blaue	Typhus
II a) ganz rot		II a) ganz rot	
b) ca. 20 rote Kol. 1 blaue		b) alle rot	
c) ca. 20 rote Kol. 3 blaue	Kokken	c) ganz rot	
III a) ganz rot		III a) dgl.	
b) ca. 20 rote Kol.		b) alle rot	
c) 5 rote		c) dgl.	
IV a) ganz rot		IV a) „	
b) unzähl. rote Kol. 1 blaue	Kokken	b) ganz rot	
c) 4 rote		c) alle rot	
V a) alles rot		V a) dgl.	
b) „ „		b) „	
c) 4 rote		c) „	
VI a) ganz rot		VI a) „	
b) ca. 20 rote Kol.		b) „	
c) 6 rote		c) „	

4. Serum Drigalski-Conradi-Nährboden mit Kristallviolett + 0,6 Proz. Coffein

nach 24 Stunden	Verdächtige Kolonieen abgeimpft u. festgestellt als	nach 48 Stunden	Verdächtige Kolonieen abgeimpft u. festgestellt als
I a) 1 blaue Kolonie	Kokken	I a) **sehr viele blaue**	Typhus
b) 0		b) kleiner Strich rötlich	
c) 0		c) 0	
II a) 0		II a) einige blaue	„
b) 0		b) 0	
c) 0		c) 0	
III a) 0		III a) Strich rot einige blaue	„
b) 0		b) 0	
c) 0		c) 0	
IV a) 0		IV a) einige blaue	„
b) 0		b) 0	
c) 0		c) 0	
V a) 0		V a) einige blaue	„
b) 0		b) 0	
c) 0		c) 0	
VI a) 0		VI a) einige blaue	„
b) 0		b) 0	
c) 0		c) 0	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tafel V (Fortsetzung).

5. Serum Drigalski-Conradi-Nährboden ohne Kristallviolett			
nach 24 Stunden	Verdächtige Kolonieen abgeimpft u. festgestellt als	nach 48 Stunden	Verdächtige Kolonieen abgeimpft u. festgestellt als
I a) unzähl. rote Kol. wenige blaue	Typhus	I a) ganz rot	
b) ca. 20 rote 2 blaue		b) wie nach 24 Stunden	
c) einige rote „ blaue		c) dgl.	
II a) ganz rot		II a) „	
b) ca. 15 rote Kol.		b) „	
c) 4 rote wenige ganz kleine blaue	Kokken	c) „	
III a) ganz rot		III a) „	
b) viele rote Kol.		b) „	
c) „ „ „		c) „	
IV a) ganz rot		IV a) „	
b) viele rote Kol. einige blaue	Kokken	b) „	
c) viele rote		c) „	
V a) ganz rot		V a) „	
b) viele rote Kol.		b) „	
c) wenige rote „ blaue	Kokken	c) „	
VI a) ganz rot		VI a) „	
b) viele rote Kol.		b) „	
c) 5 rote		c) „	

Zusammenfassung.

1) Schlecht wachsende Typhusbacillen sind auf Agar, dem ca. 20 Proz. Serum zugesetzt werden, zu üppigstem Wachstum zu bringen.

2) Auch sonst gut wachsende Typhusstämme zeigen auf den Serum-Nährböden ein wesentlich üppigeres Wachstum.

3) Durch Verwendung des Serumagars zur Bereitung des Kongorot-Nährbodens ließen sich die Typhusbacillen noch in tausendfach stärkerer Verdünnung nachweisen als mit dem gewöhnlichen Kongorot-Nährboden (s. Versuch II).

In diesem Versuch war die anreichernde Kraft des Serum-Kongorot-Nährbodens für Typhusbacillen so stark, daß sie aus einem Gemisch von Typhus- und Coli-Bacillen, in dem sich diese im Verhältnis wie 1 : 10000000 befanden, noch mühelos herausgezüchtet werden konnten, während der gewöhnliche Kongorot-Nährboden dasselbe nur bis zum Verhältnis 1 : 10000 zuwege brachte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

4) Durch Zusatz von 0,6 Proz. Coffein zu dem Serum-Kongorot-Nährboden läßt sich eine absolute Hemmung der Coli-Bacillen erreichen, während die Typhusbacillen noch gutes Wachstum zeigen. Auch dieser Coffein-Nährboden wies die Typhusbacillen innerhalb 24 Stunden in dem Gemisch 1 Typhusbacillus auf 10000000 Coli-Bacillen nach.

5) Auch der Drigalski-Conradi-Nährboden wirkt durch Zusatz von Coffein absolut hemmend für Coli-Bacillen, jedoch zeigen auch die Typhuskolonieen eine zeitliche Hemmung, da sie erst nach 48 Stunden erscheinen (s. Versuch V).

6) An der Hand der experimentellen Nachprüfung hat sich ergeben, in Uebereinstimmung mit den Ergebnissen in der praktischen Typhusdiagnose, daß der Kongorot-Nährboden dem Drigalski-Conradi-Nährboden überlegen ist. Es liegt dies hauptsächlich an dem zu leichten Umschlag des Lackmusfarbstoffes, denn wenn die Entwickelung des Coli-Bacillus durch Coffein hintan gehalten wird, so gibt der Nährboden dieselben Resultate, wenn auch zeitlich verschieden, wie der Kongorot-Nährboden. Die Verzögerung ist wohl durch das Kristallviolett verursacht (s. Versuch V).

7) Der beschriebene Serum-Coffein-Nährboden besitzt außer den geschilderten Vorzügen noch den Vorteil großer Billigkeit, da das teure Rindfleisch durch den äußerst billigen Blutkuchen ersetzt wird.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Inhalt.

Abel, Friedrich Loeffler †, p. 241.
Galli-Valerio, B., Beobachtungen über Culiciden, p. 260.
Jaffé, Hermann, Ein Vorschlag zur Materialersparnis bei bakteriologischen Untersuchungen, p. 304.
van Leeuwen, Joël Fredrik Hendrik Louis, Die intrakutane Tuberkulination bei Hühnern, p. 275.
Markl, Jaromir Gottlieb, Eine neue Vorrichtung für rasches und billiges Arbeiten bei Massenuntersuchungen auf Cholera, p. 305.
Sangiorgi, Giuseppe, Ueber einen Befund in der Warze (Verruca Porro), p. 257.
Schmitz, K. E. F., Ein neuer Elektivnährboden für Typhusbacillen, p. 306.
Stickdorn, W., Untersuchungen über die der Coli-Typhusgruppe angehörigen Erreger von Kälberkrankheiten, p. 245.
Süssmann, Ph. O., Die Verwendung von Drigalski-Schalen zur Gewinnung von Typhus- und Cholera-Impfstoff mit Hilfe eines einfachen Apparates, p. 288.
Toenniessen, Erich, Ueber die Bedeutung der Virulenz und morphologischer Bestandteile der Bakterien für die Immunisierung und über die immunisierende Wirkung autolysierter Kulturen, p. 262.
Zucker, Alfred, Zur Bekämpfung der Kleiderläuse, p. 294.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 76. Heft 5.
Ausgegeben am 10. Juli 1915.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Systematik der Mikroorganismen.

I. Die Gruppe des Bacterium fluorescens.

[Aus dem k. k. serotherapeutischen Institut in Wien (Vorstand: Hofrat R. Paltauf).]

Von Priv.-Doz. Dr. **Ernst Pribram** und cand. med. **Erwin Pulay.**

Mit 1 Figur.

Die Stellung der Gruppe des Bact. fluorescens im System der Mikroorganismen erscheint vom botanischen Gesichtspunkte aus sehr bemerkenswert. Einzelne Vertreter dieser Gruppe schließen sich morphologisch und teilweise auch in ihrem biologischen Verhalten so eng an die Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe an, daß Berghaus[1]) einen Vertreter der Gruppe, das Bact. putidum (= B. fluorescens non liquefaciens) mit dem Bact. alcaligenes (= B. faecale alcaligenes), einem Vertreter der Coli-Gruppe, geradezu identifizieren wollte und die Ansicht aussprach, daß ersteres nur die Fähigkeit der Fluoreszenz verloren habe. Diese Auffassung wurde durch Klimenko[2]) endgültig widerlegt. Ganz auffallend ist weiter die nahe biologische Verwandtschaft einzelner Vertreter dieser Gruppe zum Bact. pyocyaneum, mit welchem sie vor allem die Produktion ein und desselben fluoreszierenden Farbstoffes teilen, während andere Vertreter eine analoge Zersetzung des Nährbodens hervorrufen [Bact. putidum, vgl. die Dissertation Niederkorns[3])]. Wieder andere Vertreter der Fluorescens-Gruppe schließen sich so eng an die Vibrionen an, daß sie von ihnen morphologisch kaum getrennt werden können. So nennt Migula[4]) einen Vertreter der Gruppe „Spirillum" fluorescens [in der vorliegenden Abhandlung als Vibrio fluorescens bezeichnet[5])], ein Name, der, wie sich zeigen wird, sowohl im morphologischen wie im biologischen Verhalten seine Berechtigung findet, wenn auch die innigste Beziehung zum Bact. putidum, welche andere Autoren veranlaßt hat, die beiden Stämme als untereinander identisch anzuführen [Lehmann und Neumann[6])] bis zu einem gewissen Grade ebenfalls zu recht besteht. Endlich konnten wir noch Beziehungen zum Bact. vulgare (= B. Proteus) feststellen.

Neben diesen Wechselbeziehungen zu Vertretern anderer Gruppen, dem Bact. pyocyaneum, Bact. vulgare und zu Vertretern der Vibrionen, V. Proteus (Finkler u. Prior) und V. saprophiles, sollte in den vorliegenden Untersuchungen gleichzeitig das Verhältnis der Fluore-

1) Berghaus, Hyg. Rundsch. Bd. 15. p. 761.
2) Klimenko, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907. p. 755.
3) Niederkorn, (Inaug.-Diss.) Freiburg (Schweiz) 1898; ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. 27. 1900. p. 749.
4) Migula, System der Bakterien.
5) Wir halten uns in der Nomenklatur sonst streng an Lehmann und Neumann, Bakteriol. Diagnostik. 1912.
6) Lehmann u. Neumann, Bakteriol. Diagnostik. 1912. p. 415.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

scens-Arten untereinander berücksichtigt werden. Maßgebend war für die Zuweisung eines bestimmten Platzes im System stets in erster Linie das Verhalten der Agglutination. Der positive Ausfall der Agglutination in der Grenzkonzentration oder in hohen Verdünnungen berechtigt zweifellos zum Schluß auf verwandtschaftliche Beziehung [Paltauf[7])], um so mehr, als in allen vorliegenden Fällen dieser Schluß entweder durch morphologische oder biologische Eigenschaften oder dadurch gestützt wurde, daß die dem untersuchten in der Reihe am nächsten stehenden Stämme ein gleiches oder ähnliches Verhalten zeigten, oder endlich dadurch, daß Beziehungen zu einem Stamme aufgedeckt werden konnten, der zwischen zwei miteinander nicht in direkter Beziehung stehenden Stämmen die Verbindung herstellte. Das Fehlen der Agglutination darf uns also nicht veranlassen, verwandtschaftliche Beziehungen zu leugnen, wenn mehrere andere biologische Eigenschaften übereinstimmen; sie weisen aber doch auf Differenzierungen hin, die sich sonst unserer Beobachtung entziehen können. Andererseits müssen wir mit der Identifizierung sehr vorsichtig zu Werke gehen, da wir sonst gerade die interessanten Uebergänge zwischen den einzelnen Gruppen übersehen. Ein schlagendes Beispiel dafür ist aber der erwähnte Vibrio fluorescens, der den Uebergang zur Familie der Vibrionen herstellt, sonst aber sehr leicht mit dem Bact. putidum verwechselt oder identifiziert werden kann. Auch die übrigen im folgenden zu besprechenden Vertreter der Fluorescens-Gruppe sind nicht ohne weiteres miteinander zu identifizieren, wenn sich auch einzelne außerordentlich nahestehen.

Wir beginnen mit der Anführung der einzelnen untersuchten Stämme, erwähnen dabei kurz die wichtigsten kulturellen Eigenschaften und das agglutinatorische Verhalten des mit dem Stamme hergestellten Serums sowie des Stammes selbst gegenüber dem Serum der anderen untersuchten Kulturen, wobei wir auf die übersichtliche tabellarische Zusammenstellung verweisen. In dieser kann durch Verfolgung einer Vertikalreihe das agglutinatorische Verhalten des mit einer Kultur hergestellten Serums gegenüber allen anderen und dem eigenen Stamme, in der Horizontalreihe das agglutinatorische Verhalten eines bestimmten Stammes gegen alle verwendeten Sera nachgesehen werden. Mit einzelnen Stämmen wurden keine Sera hergestellt.

Wir arbeiteten mit folgenden Kulturen der Králschen Sammlung:

1) Bact. fluorescens (Basel), als B. fluorescens liquefac. der Basler Sammlung von Lehmann (Würzburg) eingesendet.

2) Bact. putidum (Würzburg) = B. fluorescens non liquef., von Lehmann (Würzburg).

3) Vibrio fluorescens (Migula), als Spirillum fluorescens Migula von Migula, Karlsruhe (1892).

4) Bact. aureum (Zikes), als B. fluorescens aureum von Zikes, Wien.

5) Bact. (fluorescens) Piorkowski, von Piorkowski, Berlin.

6) Bact. (fluorescens liquefaciens) „Hochquellwasser", Grassberger, Wien.

7) Bact. (fluorescens) „Frühstück", Grassberger, Wien.

8) Bact. pyocyaneum, von Söhngen, Delft.

9) Bact. vulgare, als B. Proteus vulgare von Krumbholz, Wien.

---

7) Paltauf, Handb. d. pathog. Mikroorg. 2. Aufl. Bd. 2. 1912.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

10) Vibrio Proteus (= Spirillum Finkler u. Prior, Or.-Stamm aus Faeces).

11) Vibrio (Proteus) Winslow, als Microspira Proteus von Winslow, New York.

12) Vibrio saprophiles α Weibel (von Czaplewski, Tübingen).

13) Bact. album β (Zikes), als B. fluorescens album von Zikes, Wien.

14) Bact. Termo Fischer, als B. fluorescens termo von Lehmann, Würzburg.

(Die letztgenannten beiden Kulturen schieden wegen Spontanagglutination aus unseren Versuchen aus.)

Bact. fluorescens: Der Gelatinestich zeigt nach 2 Tagen breite, kegelförmige Verflüssigung, mikroskopisch sowohl die bei Zimmertemperatur als die bei 37° gewachsene Kultur kurze, dünne Stäbchen mit lebhafter Eigenbewegung. Sowohl bei Zimmertemperatur als auch bei 37° wird ein gelbgrün fluoreszierender Farbstoff gebildet.

Das mit dieser Kultur hergestellte Serum agglutinierte den eigenen Stamm bis zu einer Verdünnung 1:2000. Das Serum agglutiniert, wie die Tabelle zeigt, noch einige andere Stämme, von denen später die Rede sein soll. Der in Rede stehende Stamm wird in höheren Verdünnungen nur von jenem Serum agglutiniert, das mit dem Bact. pyocyaneum hergestellt wurde; mit diesem Bakterium ist der Stamm außerordentlich verwandt; das mit dem Bact. fluorescens hergestellte Serum agglutiniert das Bact. pyocyaneum; die Farbstoffe sind, wie erwähnt, identisch.

Bact. putidum: Gelatine wird auch bei wochenlanger Beobachtung nicht verflüssigt. Die bei 37° gewachsene Kultur zeigt keine Spur von Fluoreszenz, doch weist die intensive Gelbfärbung des Agars auf die Produktion eines gelben, nicht fluoreszierenden Farbstoffes hin. Bei Zimmertemperatur tritt, wenn die Kultur von vornherein zwischen 20 und 25° gehalten wird, nach mehreren Tagen lebhafte, grüne Fluoreszenz auf. Mikroskopisch sieht man in der bei 20° ebenso wie in der bei 37° gewachsenen Kultur kurze, dünne Stäbchen mit lebhafter Eigenbewegung; morphologisch vom Bact. fluorescens nicht zu unterscheiden.

Das mit diesem Stamme hergestellte Serum agglutiniert den eigenen Stamm bis zur Verdünnung 1:10000, agglutiniert ebenso hoch auch den Vibrio fluorescens, etwas weniger hoch den Vibrio Proteus Winslow und den Vibrio saprophiles α, dagegen gar nicht das Bact. fluorescens, den Vibrio Proteus (Orig.) und den Vibrio saprophiles β. Die Beziehungen zur Vibrionengruppe sind also hier schon deutlicher als im vorigen Falle, aber immer noch nicht so ausgeprägt wie im folgenden, bei dem diesem Stamme im übrigen so nahestehenden Vibrio fluorescens. Von den Stämmen der Fluorescensgruppe agglutiniert das Serum des Bact. putidum alle, mit der einzigen Ausnahme des Bact. fluorescens, also des typischen Vertreters. Die drei verflüssigenden Stämme: Hochquellwasser, Frühstück, Piorkowski, werden alle bis zu 1000-facher Verdünnung komplett agglutiniert, der Stamm Bact. aureum bis zu 100-facher. Von all diesen Stämmen wird nur der Stamm Hochquellwasser vom Serum des Bact. fluorescens ausgeflockt; dieser stellt also gewissermaßen die Verbindung zwischen dem Bact. putidum und dem Bact. fluorescens her. Die anderen beiden Stämme sind, obwohl sie das Gelatineverflüssigungs-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

vermögen besitzen, doch als dem Bact. putidum näher stehend zu betrachten. Der Stamm Piorkowski steht dem Bact. putidum und dem Vibrio fluorescens in mancher Beziehung besonders nahe. Abgesehen von der Agglutination durch das Serum des Bact. putidum bis zu 2000-facher Verdünnung, durch den Vibrio fluorescens bis zu 10000-facher, zeigt er, gerade so wie Bact. putidum, bei 37° wachsend, keine Fluoreszenz. Dagegen nähert er sich der Gruppe des Bact. fluorescens sowohl durch das Vermögen, Gelatine zu verflüssigen, als auch durch die auffallend hohe Agglutination des Stammes Hochquellwasser, des einzigen, der durch sein Serum agglutiniert wird.

Vibrio fluorescens: Der Stamm steht, wie erwähnt, dem Bact. putidum außerordentlich nahe, unterscheidet sich aber schon morphologisch von diesem durch das vibrioartige Wachstum bei 37°, was Migula zur Namengebung veranlaßt haben dürfte. Man sieht in diesem Präparate (24 Std. alte Kultur) lange, häufig gekrümmte Stäbchen, zuweilen kommaartig, oft in körnigem Zerfall. Bei 20° hingegen wächst die Kultur ganz ähnlich wie die anderen Bakterien der Fluorescens-Gruppe: kurze, schmale Stäbchen, einzelne ganz leicht gekrümmt. Lehmann und Neumann, welche dieselbe Kultur untersucht haben, die uns zur Verfügung stand, identifizierten sie aus diesem Grunde mit dem Bact. putidum (l. c.). Die Kultur erscheint also durch ihr morphologisches Verhalten als typischer Grenzfall zwischen Bakterium und Vibrio, und es ist sehr interessant, daß sich dieses Verhalten auch ganz auffallend bei der Agglutination kundgibt.

Von dem mit diesem Stamme hergestellten Serum werden (übereinstimmend bei 2 Kaninchen) aus der Fluorescens-Gruppe agglutiniert: der eigene Stamm bis zu 2000-facher Verdünnung, Bact. putidum, Stamm Frühstück, und Bact. aureum fast ebenso hoch, der Stamm Piorkowski (in beiden Fällen) sogar bis zu 10000-facher Verdünnung, also höher als der eigene Stamm; fast ebenso hoch, bis zu 10000-facher Verdünnung partiell, bis zu 1000-facher komplett, der Vibrio Proteus Winslow und der Originalstamm Vibrio Proteus Finkler et Prior ebenfalls bis zu 1000-facher Verdünnung, etwas schwächer endlich der Vibrio saprophiles α, der vom Bact. putidum stärker agglutiniert wird, Vibrio saprophiles β hingegen gar nicht (übereinstimmende Versuche bei 2 immunisierten Kaninchen). Gleich hier sei übrigens erwähnt, daß beide, mit diesen Vibrionen hergestellten Sera den Vibrio fluorescens fast ebenso hoch agglutinieren wie den eigenen Stamm (1 : 10000 partiell). Das Serum des Vibrio fluorescens zeigt seine außerordentliche Reaktionsbreite gegenüber anderen Gruppen auch darin, daß es das Bact. vulgare in auffallend hoher Verdünnung agglutiniert (1 : 10 000), (in beiden Versuchsreihen!), sicher keine zufällige Erscheinung, da dieses Bakterium auch vom Serum eines anderen Vertreters der Fluorescens-Gruppe, von dem des Bact. aureum, gleichfalls fast in 10000-facher Verdünnung ausgeflockt wird, einem Stamme, der, wie erwähnt, vom Serum des Vibrio fluorescens hoch agglutiniert wird und dessen Serum diesen Vibrio ebenfalls noch in 10000-facher Verdünnung agglutiniert.

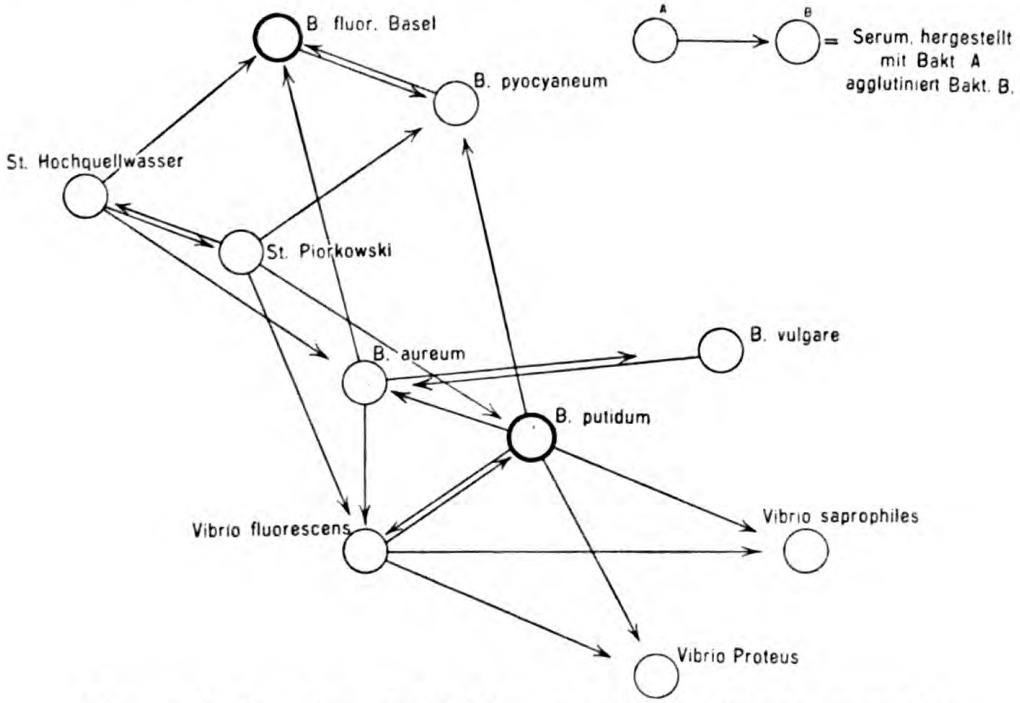
Das Bact. vulgare wurde deshalb in den Kreis der Untersuchungen einbezogen, weil das morphologische Verhalten dieses Mikroorganismus (Bact. Proteus vulgare!) viel Aehnlichkeit mit dem des Vibrio fluorescens hat: mikroskopisch sieht man bald Kurzstäbchen, bald Langstäbchen, oft auch Fäden mit spiraligen Windungen. Dieses

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

morphologische Verhalten steht auch hier in voller Uebereinstimmung mit dem Verhalten bei der Agglutination gegenüber den Vertretern der Vibrionengruppe: Das Bact. vulgare wird nämlich außer von den genannten in einem Falle noch vom Serum des Vibrio Proteus agglutiniert, in fast 1000-facher Verdünnung, und das mit dem Bact. vulgare hergestellte Serum agglutiniert seinerseits den Vibrio Proteus bis zu 1000-facher Verdünnung[1]). Das Bact. vulgare bildet also, ähnlich wie der Vibrio fluorescens, einen Uebergang zwischen Bakterien und Vibrionen.

Das Bact. aureum steht in jeder Beziehung dem Bact. putidum sehr nahe. Es verflüssigt Gelatine nicht, zeigt, bei 37° gewachsen, keine Fluorescenz, wird vom Serum des Bact. putidum und Vibrio fluorescens, auch von dem des Vibrio saprophiles β, das diese beiden ausflockt, agglutiniert, eigenartigerweise aber auch noch in 1000-facher Verdünnung vom Serum des Bact. fluorescens, zu dem es also ebenfalls in Beziehung steht. Das Serum, das mit diesem Stamme hergestellt wurde, agglutiniert dagegen nur die ihm nahe verwandten Bact. putidum und Vibrio fluorescens, beide in 1000-facher Verdünnung, auch den Stamm Frühstück (1:2000), dagegen nicht das Bact. fluorescens. Von der Agglutination des Bact. vulgare durch dieses Serum war bereits oben die Rede.

Stamm Piorkowski: Keine Fluoreszenz der bei 37° C gewachsenen Kultur, kräftiges Verflüssigungsvermögen. Er steht im übrigen dem Bact. putidum sehr nahe (s. oben), noch näher vielleicht dem Vibrio fluorescens, von dessen Serum er (in beiden Versuchsreihen)



Schematische Darstellung der Beziehung der einzelnen Bakterien zueinander.

1) In der ersten Versuchsreihe wurde zwar der Originalstamm V. Proteus nicht agglutiniert, wohl aber der amerikanische (Winslows); in der zweiten der Originalstamm einwandfrei bis zu 10000-facher Verdünnung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Stämme	Serum vom normalen Kontrolltier[1])	Serum 1 B. fluorescens Titer 1:2000	Serum 2 B. putidum Titer 1:10000	Serum 3 Vibrio fluorescens Titer 1:1000	Serum 4 B. aureum Titer 1:10000
1. B. fluorescens	—	+ 2000 ± 10000	—	—	—
2. B. putidum	—	—	+ 10000	+ 2000 ± 10000	+ 10000
3 Vibrio fluorescens	—	—	+ 10000	+ 1000	+ 10000
4. B. aureum	—	+ 1000	+ 100	+ 2000	+ 10000
5. St. Piorkowski	—	—	+ 10000	+ 10000	—
6. St. Hochquellwasser	—	+ 2000	+ 1000	+ 10	—
7. St. Frühstück	—	—	+ 1000	+ 1000	+ 2000
8. B. pyocyaneum	—	+ 1000 ± 10000	—	—	—
9. B. vulgare	—	—	—	+ 10000	± 10000
10a. Vibrio Proteus b. Vibrio Proteus Winslow	— Va Vb	+ 1000 ± 10000 + 10000	—	+ 2000	+ 10
11. Vibrio saprophiles α	—	—	+ 1000	+ 100	—
12. Vibrio saprophiles β	—	—	—	—	—
13. B. typhi	—	—	—	—	—

bis zu 10000-facher Verdünnung ausgeflockt wird, und mit dem er die innige Verwandtschaft zu einzelnen Vibrionen teilt: Agglutination durch das Serum des Vibrio saprophiles β in 10000-facher Verdünnung (vgl. die Horizontalreihe der Tabelle). Auch in ihrem Verhalten zum Bact. pyocyaneum stimmen Vibrio fluorescens und Stamm Piorkowski gut überein, da beide von dessen Serum hoch agglutiniert werden. In einer Beziehung unterscheiden sich aber die beiden Stämme ganz auffallend, nämlich in der Reaktionsbreite der mit ihnen hergestellten Sera gegenüber anderen Stämmen. Das Serum des Stammes Piorkowski agglutiniert von allen untersuchten Kulturen außer dem eigenen Stamme nur den Stamm Hochquellwasser. Ob hier die individuelle Komponente der zur Herstellung der Sera verwendeten Tiere (Kaninchen) mitspielt, muß durch spätere Untersuchungen festgestellt werden. Beziehungen dieses Stammes zum V. Proteus ließen sich im Gegensatz zum V. fluorescens nicht nachweisen.

Der Stamm Hochquellwasser und der Stamm Frühstück zeigen in ihrer Agglutinabilität, obwohl sie beide Gelatine verflüssigen, recht erhebliche Differenzen. Der Stamm Hochquellwasser scheint in der Mitte zwischen den beiden Grenztypen, dem Bact. fluorescens und Bact. putidum, zu stehen; er wird von dem Serum des ersteren

1) Alle Versuche wurden an zwei verschiedenen Kaninchen ausgeführt und stimmten in ihren Resultaten bis auf unbedeutende quantitative Verhältnisse genau überein.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Serum 5 St. Piorkowski Titer 1:10000	Serum 6 St. Hochquellwasser Titer 1:10000	Serum 8 B. pyocyaneum Titer 1:10000	Serum 9 B. vulgare Titer 1:10000	Serum 10 Vibrio Proteus Titer 1:10000	Serum 11 Vibrio saprophiles α Titer 1:10000	Serum 12 Vibrio saprophiles β Titer 1:10000
—	—	+ 2000	—	—	—	—
—	—	+ 100	—	—	+ 100 ± 2000	+ 100 ± 2000
—	—	+ 100	+ 100	+ 1000	+ 100 ± 10000	+ 100 ± 1000
—	+ 1000	+ 10 ± 100	—	—	+ 10	+ 10
+ 10000	+ 10000	+ 10000	—	—	+ 100	+ 100
+ 100 ± 10000	+ 10000	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	+ 10000	—	—	—	—
—	—	—	+ 10000	+ 100 ± 1000	—	—
—	+ 10	—	— + 10000	+ 10000	+ 10	+ 10
—	—	—	—	—	+ 10000	+ 10000
—	—	—	—	—	+ 10000	+ 10000
—	—	—	—	—	—	—

bis zu 2000-facher, von dem des letzeren bis zu 1000-facher Verdünnung agglutiniert, von dem Serum des Stammes Piorkowski, wie schon erwähnt, sogar bis zu 10 000-facher, dagegen bemerkenswerterweise auffallend wenig vom Serum des Vibrio fluorescens (in der einen Versuchsreihe gar nicht, in der anderen bis 1:100), und überhaupt von keinem Vibrionenserum.

Der Stamm Frühstück hingegen steht, mit Ausnahme seiner verflüssigenden Eigenschaft, in jeder Beziehung dem Bact. putidum viel näher als dem Bact. fluorescens. Er wird von dem Serum des Bact. putidum bis 1:1000 agglutiniert, von dem des Bact. fluorescens überhaupt gar nicht, und wird dementsprechend von jedem Serum agglutiniert, das mit einem Stamme gewonnen wurde, der dem Bact. putidum nahesteht, also von dem Serum des Vibrio fluorescens und dem des Bact. aureum. Dagegen wird auch dieser Stamm sonst von keinem Vibrionenserum ausgeflockt.

Das Serum des Vibrio Proteus (Finkler et Prior) agglutiniert, wie erwähnt, außer seinen eigenen Stamm und den amerikanischen von Winslow auch den Vibrio fluorescens bis zu 1000-facher Verdünnung. Diese Beziehung der Fluorescens- zur Vibrionen-Gruppe wird noch deutlicher dadurch, daß der Vibrio Proteus durch das Serum des Vibrio fluorescens ausgeflockt wird, und durch die Agglutination des Winslowschen Vibrio durch nicht weniger als 3

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der untersuchten, mit Vertretern der Fluorescens-Gruppe hergestellten Sera, dem Serum des Bact. fluorescens, Bact. putidum und Vibrio fluorescens, alle fast bis 1:10000. Eigenartig erscheint die Tatsache, daß durch das Serum des Vibrio Proteus auch das Bact. vulgare agglutiniert wird (partiell bis 1:1000), wohl kein Zufall, da in einer Versuchsreihe zwar nicht dieser, aber der amerikanische Stamm in 100-facher Verdünnung komplett, in 10000-facher partiell von dem Serum des Bact. vulgare ausgeflockt wird, in der anderen Reihe der Originalstamm sogar in 10000-facher Verdünnung komplett.

Die Sera der beiden Kulturen Vibrio saprophiles α und β agglutinieren sich gegenseitig bis zu 10000-facher Verdünnung, beide auch den Vibrio fluorescens (1:10000 partiell). Das eine der beiden Sera agglutiniert außerdem noch den Stamm Piorkowski, beide das Bact. putidum. Es scheint also, daß diese Vibrionen in ihren agglutinogenen Eigenschaften den Bakterien der Fluorescens-Gruppe näher stehen als den anderen hier untersuchten Vibrionen.

Das Serum des Bact. pyocyaneum, dessen Farbstoff identisch mit den von den Mikroorganismen der Fluorescens-Gruppe produzierten ist, agglutiniert 4 Vertreter dieser Gruppe, 3 davon fast in der gleichen Höhe wie den eigenen Stamm: Bact. fluorescens, Vibrio fluorescens und Stamm Piorkowski, einen, Bact. putidum, in 100-facher Verdünnung. Der Stamm selbst wird aber außer von dem mit ihm selbst hergestellten, nur von dem Serum des typischen Bact. fluorescens, dem er offenbar sehr nahesteht, ausgeflockt.

Zusammenfassung.

I. Die Mikroorganismen der Fluorescens-Gruppe sind untereinander nicht identisch, sondern treten in zahlreichen Variationen auf. Die beiden Hauptvertreter: Bact. fluorescens (sensu strictiori) und Bact. putidum zeigen miteinander die geringsten verwandtschaftlichen Beziehungen, obwohl sie morphologisch nicht voneinander zu unterscheiden sind. Die mit den beiden Stämmen hergestellten Sera agglutinieren den heterogenen Stamm nicht. Dagegen gibt es unter den anderen Vertretern der Gruppe Stämme, welche vom Serum des Bact. fluorescens und fast ebenso hoch von dem des Bact. putidum agglutiniert werden. Wir fanden aber bisher keinen einzigen Stamm der Gruppe, dessen Serum beide Hauptvertreter gleichzeitig agglutiniert.

Die übrigen Vertreter der Gruppe lassen sich als Varietäten dieser beiden Haupttypen auffassen und werden mindestens vom Serum eines der beiden Hauptvertreter der Gruppe agglutiniert. Das Gelatineverflüssigungsvermögen ist durchaus kein Kriterium für die Zugehörigkeit dieser Stämme zu der einen oder der anderen Hauptgruppe. Einzelne Stämme bilden den Uebergang zwischen den beiden Hauptgruppen (St. Hochquellwasser, Bact. aureum).

Das Fluoreszenzvermögen des typischen Bact. fluorescens ist unabhängig von der Temperatur, bei welcher der Stamm gewachsen ist. Das Bact. putidum und die meisten anderen Vertreter der Gruppe

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bilden den fluoreszierenden Farbstoff nur dann, wenn sie bei ca. 20° wachsen, sonst einen gelben, nicht fluoreszierenden Farbstoff.

Ein Vertreter der Gruppe zeigt morphologische Unterschiede, je nachdem, ob er bei 37° oder bei Zimmertemperatur wächst. Im ersteren Falle wächst er als Vibrio (Vibrio fluorescens), im letzteren als Bakterium, und ist dann von den anderen Vertretern der Gruppe morphologisch nicht zu unterscheiden. Dieser Stamm bildet in jeder Beziehung den Uebergang von der Familie der Bakterien zur Familie der Vibrionen.

II. Die ganze Fluorescens-Gruppe steht an der Grenze der Familie der Bakterien und Vibrionen. Diese äußert sich einmal im eben erwähnten Verhalten des einen Vertreters der Gruppe, je nach der Wachstumstemperatur einmal als Vibrio, einmal als Bakterium zu imponieren. Abgesehen davon zeigt dieser Vertreter der Gruppe durch sein agglutinatorisches Verhalten innige Wechselbeziehungen zu zwei untersuchten Vertretern der Familie der Vibrionen: V. Proteus und V. saprophiles. Das Serum dieses Vibrio fluorescens zeigt unter allen der untersuchten Stämme der Gruppe wohl die weitaus größte Reaktionsbreite gegenüber den Vertretern der Familie der Vibrionen, doch zeigen auch fast alle anderen Vertreter der Gruppe irgendwelche, oft sogar recht ausgesprochene agglutinatorische Beziehungen zu den Vibrionen.

Das Bact. vulgare, das ähnlich wie der Vibrio fluorescens polymorph auftreten kann (Bact. Proteus), zeigt in seinem Verhalten bei der Agglutination innige Wechselbeziehungen sowohl zu dem als Vibrio fluorescens bezeichneten Vertreter der Fluoreszenzgruppe, als auch zum Vibrio Proteus. Es bildet auf diese Weise vielleicht den Uebergang von der fluoreszierenden Bakterien- zur nicht fluoreszierenden Vibrionenfamilie.

Den Uebergang zu anderen Bakteriengruppen scheint das Bact. pyocyaneum zu vermitteln. Die Farbstoffproduktion hat es mit der in Rede stehenden Gruppe gemeinsam, und auch in der Agglutination zeigen sich, wenn auch nur einseitig, deutlich verwandtschaftliche Beziehungen. Ob dieses Bakterium oder vielleicht ein anderes den Uebergang der Fluorescens-Gruppe zur anderen, vielleicht zur Gruppe des Bact. faecale herstellt, sei späteren Untersuchungen vorbehalten.

Abgeschlossen im Juli 1914.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Veränderungen von Bakterien im Tierkörper.

XII. Abschwächungsversuche am Milzbrandbacillus bei 42°.

[Aus dem Hygienischen Institute der deutschen Universität Prag.]

Von Prof. Dr. **Oskar Bail.**

In zwei vorhergehenden Mitteilungen (dies. Centrallbl. Bd. 75. Heft 2, 5/6 u. Bd. 76. Heft 1) wurde über Versuche berichtet, bei denen durch kurzdauernde Einwirkung hoher Temperaturen (meist über 50°) Abarten des Milzbrandbacillus entstanden, die ohne besonders auffallende Aenderung ihrer Züchtungsmerkmale doch ihr Kapselbildungsvermögen bei der Zucht in Serum vollständig und dauernd erblich eingebüßt hatten. Sie erwiesen sich auch als der Infektiosität vollkommen beraubt, töteten Kaninchen und Meerschweinchen überhaupt nicht mehr und Mäuse nur unter Erscheinungen, welche wohl auf eine Giftwirkung hinwiesen, aber eine eigentliche Vermehrung der Bakterien nicht erkennen ließen. Es war auf keine Weise möglich, das einmal verlorene Kapselbildungsvermögen wiederherzustellen. Außer diesen selten gebildeten Rassen wurden öfter solche gefunden, welche nur einen Teil ihrer Kapselbildung aufgegeben hatten, dieselben aber später, sei es durch fortgesetzte Züchtung in Serum, sei es beim Durchgange durch den Tierkörper wiedererlangten. Im ganzen ist aber das Verfahren der kurzdauernden Erhitzung auf höhere Temperatur für den in Untersuchung genommenen Milzbrandstamm für die Gewinnung abgeschwächter Rassen kein ergiebiges.

Es mußte nun viel Interesse darbieten, den gleichen Stamm dem klassischen Abschwächungsverfahren durch Züchtung nahe der Höchsttemperatur auszusetzen. In dieser Hinsicht liegen bereits ausführliche Versuchsmitteilungen von Preisz (dies. Centralbl. Bd. 44, 47, 58) vor, der sowohl anderwärts hergestellte Vaccins untersuchte, als auch selbst die Abschwächung bei 42,5° durchführte. Er erkannte mit aller Bestimmtheit, daß derartige Zuchten niemals einheitlich zusammengesetzt sind, sondern Einzelzellen von großen Verschiedenheiten enthalten, die sich nicht nur in den züchterischen Besonderheiten, sondern auch in der Infektiosität zu erkennen geben: zu wirklich reinen abgeschwächten Rassen kann man nur durch Einzelauslese gelangen. Die Aufdeckung des Zusammenhanges zwischen Kapselbildungsvermögen und Infektiosität geht ebenfalls auf diese Untersuchungen zurück. Von großem Interesse in den Preiszschen Versuchen ist die Erscheinung, daß eine ganze Anzahl der von ihm aufgefundenen Stämme auf Agar bereits zur Kapselbildung schritt, nicht aber in Serum oder im Tierkörper. Das hängt jedenfalls von der Eigenart der Stämme ab, da der im folgenden, wie in den früheren Versuchen ausschließlich benutzte Stamm „Buchner" derartige Abkömmlinge des Ausgangsstammes niemals ergab.

Die eigenen Versuche wurden in der Weise angestellt, daß eine aus einer Zelle gewonnene Kolonie des regelrecht Kapseln bildenden Ausgangsstammes in Bouillon oder Serum übertragen und dauernd, ohne Umzüchtung bei 42—43° gehalten wurde. Von Zeit zu Zeit wurden dann Proben der Kultur auf Agarplatten übertragen und immer eine Anzahl der aufgegangenen Kolonieen in flüssiges Serum überimpft; nach

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

etwa 18-stündigem Wachstum wurde dann durch Ausstrich die Kapselbildung festgestellt.

Preisz nimmt an, daß die in kurzen, 1—3-, höchstens 5-tägigen Zwischenräumen erfolgende Ueberimpfung der Kulturen bei 42° die besten Bedingungen zur Entfaltung der Veränderlichkeit der Milzbrandbacillen darstelle. Dem soll nicht widersprochen, immerhin aber darauf hingewiesen werden, daß dadurch ein sehr wichtiger, das Bakterienleben beeinflussender Umstand, die Anhäufung und Einwirkung der Stoffwechselerzeugnisse, ausgeschaltet ist, ein Einfluß, welchen die meisten Untersuchungen über Bakterienveränderlichkeit als sehr wichtig, vielleicht bestimmend, angesehen. Daß die Einwirkung derselben bei hoher Wärme, also einem an sich ungünstigen Verhältnisse, erfolgt, kann ihre Stärke nur steigern, ganz abgesehen davon, daß unter solchen Verhältnissen vielleicht von vornherein krankhafte Erzeugnisse des Stoffwechsels zur Geltung kommen.

In den meisten Versuchen wurden nebeneinander Zuchten in gewöhnlicher Bouillon und in Serum aus der gleichen Kolonie bei 42—43° gehalten, was Gelegenheit zu einer interessanten Beobachtung gab.

Je eine Kultur der gleichen Kolonie des Ausgangsstammes in Bouillon und Rinderserum wurde in den auf 42,7° erwärmten Brutschrank gestellt. In Serum trat auch bei dieser hohen Temperatur Kapselbildung ein, schien aber weniger lebhaft als bei 37°. Nach 2 Tagen wurden Agarplatten mit je einer Oese angelegt und von den zahlreich aufgehenden Kolonieen wurden je 10 in flüssiges Serum übertragen. Die erhaltenen Kulturen waren sämtlich bekapselt, wobei aber auffiel, daß die aus dem Serum erhaltenen Zuchten nur rein tierische Bacillen enthielten, während aus der Bouillon zwar ebenfalls in Ueberzahl bekapselte Bacillen, daneben aber auch sehr zahlreiche kapselfreie Kulturfäden gewachsen waren.

Nach 5 Tagen wurde die Plattenaussaat wiederholt und von den Platten aus Bouillon, Ba, wie auch von denen aus Serum Sa je 30 Kolonieen abgeimpft. Während sämtliche Kulturen Sa rein tierisches Wachstum ergaben, bildeten von der Reihe Ba nur 7 von vornherein durchaus Kapseln; 3 zeigten in ungeheurer Mehrzahl kapsellose Kulturfäden, die nur hier und da Ansatz zur Kapselbildung merken ließen; 20 waren anscheinend kapselfrei. In der nächsten und übernächsten Uebertragung traten bei allen ganz vereinzelte Kapseln auf, nur 2, die später zu erwähnenden Stämme E und F, schienen die Kapselbildung ganz aufgegeben zu haben.

Nach 7 Tagen angelegte Platten und davon angelegte je 40 Serumzuchten der Reihen Bb und Sb zeigten wieder alle Kulturen Sb rein kapselbildend, während von Bb nicht eine einzige vollständige Kapselbildung zeigte. Nur bei 4 waren die Kapseln neben massenhaft Kulturfäden reichlicher vorhanden, bei 3 fanden sie sich schon in der ersten Zucht, aber nur sehr selten, 33 erschienen ganz kapselfrei. In der nächsten Serumübertragung wurden dann 6 als sehr selten kapselhaltig erkannt, die übrigen ließen auch bei der 3. Uebertragung keine Kapselbildung erkennen, wurden dann nicht weiter verfolgt.

Nach 9 Tagen angelegte Platten und davon angelegte je 25 Serumkulturen Bc und Sc zeigten wieder in Sc nur tierisches Wachstum, während alle Kulturen von Bc anscheinend ganz kapselfrei wuchsen; eine weitere Uebertragung auf Serum wurde nicht vorgenommen.

Nach 13 Tagen zeigen 15 abgeimpfte Kolonieen der Reihe Sd reine Kapselbildung, während die entsprechenden der Reihe Bd in der ersten oder den nächsten Serumübertragungen Kulturfäden mit sehr seltenen Ansätzen zur Kapselbildung zeigten.

Nach 20 Tagen. Reihe Se: von 12 Zuchten alle rein tierisch, von ebensoviel der Reihe Be sind 9 schon in der 1., die übrigen in der 2. und 3. Uebertragung als Kulturformen mit sehr seltener Kapselbildung zu erkennen.

Nach 26 Tagen sind wieder je 20 Zuchten von Sf alle rein tierisch, von ebenso vielen der Reihe Bf sind 13 bei 1., 3 bei der 2., je eine bei der 3. und 4. Uebertragung in Serum als Stämme zu erkennen, die fast nur in Kulturform, kapsellos, wachsen und nur ganz selten Ansatz zur Kapselbildung zeigen.

Nach 32 Tagen wird der Versuch nach Anlegung der letzten Reihen Sg und Bg beendet. Auf der Platte von Bg sind deutlich 2 Formen von Kolonieen zu beobachten; die einen entsprechen dem Aussehen von Milzbrandkolonieen, die anderen sind scharf halbkugelig, weißlich, mattglänzend, die Zeichnung des mikroskopischen Bildes ist zwar

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

noch milzbrandähnlich, doch viel zusammengedrängter. Die Kolonieen Sg gehörten alle dieser Form an, wobei zu bemerken ist, daß das Serum zu dieser Zeit schon sehr eingedickt war, so daß es durch Zusatz von Kochsalzlösung erst aufgeweicht werden mußte. Trotz dieser Verschiedenheit der Züchtungsmerkmale erwiesen sich sämtliche 20 angelegten Serumkulturen von Sg als tierisch, bei reichlichstem Wachstum; sämtliche Kulturen von Bg zeigten Wachstum in Kulturfäden mit sehr seltenen Ansätzen zur Kapselbildung.

Das überraschendste Ergebnis dieses Versuches besteht in der Feststellung, daß der abschwächende Einfluß der Züchtung bei über 42° in Serumzuchten gar nicht, in Bouillonkulturen schon nach wenigen Tagen hervortritt. Ein Parallelversuch, gleichzeitig mit dem vorigen von einer anderen Kolonie der gleichen Ausgangsplatte angelegt, hatte ein gleiches Ergebnis.

Die erste Aussaat von den bei 42,7° gehaltenen Serum- und Bouillonkulturen erfolgt am 9. Tage. 25 Kolonieen aus Serum waren sämtlich tierisch, während von ebenso vielen aus Bouillon keine einzige in der ersten Serumzucht Kapseln bildete. Nach 13 Tagen waren wieder 20 Zuchten von Sa ohne Ausnahme kapselhaltig, von Ba waren in der 1. Uebertragung 12 Kulturformen mit sehr seltenen Kapseln, 8 anscheinend ganz kapselfreie erwiesen sich aber bei weiteren Uebertragungen als in geringstem Grade kapselbildend. Nach 26 Tagen waren Kolonieen verschiedenen Aussehens, ähnlich wie im vorigen Versuche aufgetreten; doch erwiesen sich 15 Serumzuchten Sb sämtlich als kapselhaltig, ebenso viele von Bb zeigten schon in der 1. oder bis zur 4. Uebertragung nur Kulturformen mit sehr seltenen Ansätzen zur Kapselbildung. Nach 32 Tagen zeigen von 15 Kolonieen der Reihe Sc alle Kapselbildung, bei einer daneben auch viele Kulturformen, ebenso viele der Reihe Bc sämtlich ohne eigentliche Kapselbildung, doch treten bei 12 davon in späteren Uebertragungen Ansätze zur Kapselbildung hervor, 3 sind auch nach 4 Uebertragungen anscheinend ganz kapselfrei.

Auch in anderen Serien tritt dieser Unterschied der Dauer des Kapselbildungsvermögens trotz Einwirkung der hohen Wärme hervor.

Von einer Kolonie auf einer Agarplatte des Ausgangsstammes wurde auf je 5 ccm Menschenserum und Bouillon überimpft und die Zuchten dauernd bei 42,7° gehalten. Kapselbildung fand im Serum statt. Nach 4 Tagen wurden Agarplatten angelegt und je 20 Kolonieen auf Serum übertragen, alle Serumkolonieen wuchsen rein tierisch, von Bouillonkolonieen keine einzige, sondern alle zeigten nach der 1.—2. Uebertragung Kulturformen mit sehr seltenen Kapselansätzen. Nach 6 Tagen aus der Reihe Sma 20 Kolonieen rein tierisch, aus der Reihe Bma zeigt nicht eine regelrechte Kapselbildung, meist Kulturformen mit sehr seltenen Kapseln oder anscheinend ganz kapselfrei. Nach 11 Tagen werden die Reihen Smb und Bmb (je 12 Kolonieen) angelegt; in Smb sind 4 rein kapselhaltig, die übrigen enthalten neben massenhaft Kapselfäden noch mehr weniger vereinzelte Kulturformen ohne Kapseln. Von der Reihe Bmc sind 2 Kolonieen anscheinend ganz kapselfrei und zeigen erst bei der 2. und 3. Uebertragung vereinzelte Ansätze zur Kapselbildung, die übrigen Kolonieen waren kapselfrei mit einzelnen Ansätzen zu tierischen Formen. Nach 18 Tagen sah die Serumzucht weißlich dick, wie geronnen aus, ohne daß eine wesentliche Verdunstung stattgefunden hätte, da die Proben bei 42° in einem Glasgefäße mit immer ersetztem Wasser standen. Von 15 Kolonieen der Reihe Smc erwiesen sich jetzt alle in ihrer Kapselbildung gestört: eine war anscheinend ganz kapselfrei, zwei wiesen unter lauter Kulturformen sehr seltene Ansätze zur Kapselbildung auf, bei den übrigen überwogen die kapselfreien Kulturformen, doch zeigten sich viele Kapselbildungen (s. unten). Von der Reihe Bmc bildete keine einzige Kolonie Kapseln, doch traten sehr seltene Ansätze zur Kapselbildung in der ersten oder den späteren Uebertragungen auf Serum auf. Nach 36 Tagen war die Serumzucht ganz geronnen. 15 Kolonieen der damit angelegten Reihe Smd sind teilweise (4) noch vollständig imstande, Kapseln zu bilden, die übrigen waren anscheinend ganz kapselfrei oder wiesen nur sehr seltene Ansätze zur Kapselbildung auf, von den 15 Kolonieen der Reihe Bmd zeigten alle bei der ersten oder späteren Serumübertragungen dieses Verhalten.

In diesem Zusammenhange möge noch ein vierter Versuch angeführt sein, der in bezug auf den Schutz der Serumzuchten vor Abschwächung das gleiche Ergebnis hatte, der aber eigentlich von einer falschen Voraussetzung ausgegangen war. Mehrfache Beobachtungen hatten nämlich

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den Anschein erweckt, als ob im Serum von Hühnern, die mit Milzbrand behandelt worden waren, die Kapselbildung mehr oder weniger unterdrückt würde, was sich später nicht vollkommen bestätigen ließ. Es sollte nun untersucht werden, ob ein Zusatz von solchem Hühnerserum nicht imstande sei, die schützende Wirkung des normalen Serums zu unterdrücken:

Von einer Kolonie einer Agarplatte des Ausgangsstammes wurde überimpft in I. 1,5 ccm Bouillon, II. 1,5 ccm Rinderserum, III. in 1,35 ccm Rinderserum + 0,15 ccm Hühnerimmunserum, IV. in 1 ccm Rinderserum + 0,5 ccm Hühnerimmunserum. Die geimpften Proben wurden sodann in einem Glasgefäße mit Wasser bei 42° aufbewahrt. Am nächsten Tage war in II die gewöhnliche Kapselbildung, in III nur dürftige Kapselbildung nachzuweisen, wobei die bekapselten Bacillen starke Zerfallserscheinungen zeigten und neben ihnen zahlreiche Kulturformen vorhanden waren, in IV fehlte eine sichere Kapselbildung ganz, selten fanden sich Uebergangs-, meist ganz reine Kulturformen. Von angelegten Agarplatten wurden je 25 Kolonieen auf Serum abgeimpft; alle 100 erwiesen sich als einwandfrei kapselbildend. Am zweiten Tage wurde die Plattenaussaat wiederholt und je 12 Kolonieen auf Serum abgeimpft, die alle mit Kapseln wuchsen; nur in 3 Zuchten der Reihe Ia waren bereits neben bekapselten sehr viele Kulturformen vorhanden. Eine neuerliche Plattenaussaat nach 4 Tagen und Abimpfung von je 12 Kolonieen ergab in IIb, IIIb, IVb nur Kapselbacillen; von der Reihe Ib waren nur 2 Kolonieen rein kapselbildend, eine zeigte ungefähr gleichviele kapseltragende und unbekapselte Stäbchen, bei den anderen wuchs die weit überwiegende Mehrzahl der Bacillen ganz kapselfrei, und tierische Bildungen waren selten. Nach 6 Tagen angelegte Platten und daraus auf Serum abgeimpfte Kulturen zeigten von IIc, IIIc, IVc ohne Ausnahme Kapselbildung, in Ic war in keiner Kolonie mehr reine Kapselbildung vorhanden, überall fanden sich nur kapselfreie Kulturformen mit sehr seltenen Ansätzen zur Kapselbildung. Neue Plattenaussaaten nach 13 Tagen und Abimpfung von je 10 Kolonieen auf Serum ergeben in den Reihen IId und IIId nur kapselhaltiges Wachstum, von IVd sind 6 Kolonieen rein kapselhaltig, in 5 sind überwiegend kapselfreie Kulturformen mit ziemlich häufigen Kapselbildungen, in einer nur Kulturformen mit sehr seltenen Kapselansätzen. In der Reihe Id gehören alle Kulturen dieser Ausbildung an. Nach 20 Tagen wird eine neuerliche Plattenaussaat und Ueberimpfung von je 10 Kolonieen vorgenommen. Alle Uebertragungen aus den Reihen IIe, IIIe, IVe sind diesmal bekapselt, in Ie finden sich ausschließlich Kulturformen mit sehr seltenen Kapselansätzen. Die letzte Plattenaussaat nach 40 Tagen zeigt in der Reihe If wieder zweierlei Wuchsformen, ähnlich wie sie früher beschrieben wurden. Je 12 auf Serum abgeimpfte Kolonieen zeigen in If ohne Ausnahme Kulturbacillen mit sehr seltenen Kapselansätzen, IIf, IIIf, IVf sind entweder rein oder doch weit überwiegend tierisch gewachsen.

Alle zum Teil sehr weit fortgeführte Versuche ergaben übereinstimmend, daß die sich im Verluste des Kapselbildungsvermögens äußernde Abschwächung bei 42° wohl in nicht überimpften Bouillonkulturen, und zwar verhältnismäßig sehr rasch eintritt, in genau gleichbehandelten Serumkulturen aber entweder überhaupt ausbleibt oder doch viel später erfolgt. Dabei ist, wie der Vergleich der Versuche mit Rinderserum, Mischungen von diesem mit Hühnerserum und Menschenserum zeigt, die Art des Serums gleichgültig.

Offenbar liegt hier ein Beweis für die längst an anderen Bakterien, z. B. Pneumo- und Streptokokken, ermittelte Tatsache vor, nach welcher die Infektiosität am längsten in tierischen Flüssigkeiten erhalten bleibt. Die danach sofort auftauchende Frage, ob es sich um eine besondere, die Infektiosität schützende Eigenschaft der Tierseren handelt, oder ob lediglich der besondere kapseltragende Zustand der Bakterien, der sich im Serum heranbildet, die Ursache dieser Widerstandskraft bildet, wurde auf folgende Weise zu beantworten versucht:

Von einer Agarkolonie des Ausgangsstammes wurden je 5 ccm Bouillon und Rinderserum geimpft. Nach 20-stündigem Wachstum bei 37° war in beiden reichliches Wachstum, im Serum ausschließlich mit Kapseln eingetreten; die Kulturen wurden nun zentrifugiert, die Sätze zweimal mit viel Kochsalzlösung gewaschen und in Koch-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

salzlösung aufgeschwemmt, bei 42—43° gehalten. Nach 4 Tagen wurden die ersten Platten angelegt und daraus je 12 Kolonieen auf Serum übertragen (Ws = kapselhaltige Serumbacillen, Wb kapsellose Bouillonbacillen). Sämtliche Zuchten der Reihe Ws wuchsen bekapselt, in der Reihe Wb war ebenfalls Wachstum mit Kapseln vorherrschend, doch fanden sich in 3 Kulturen noch daneben mehr minder zahlreihhe Kulturformen.

Nach 7 Tagen mit Serumabimpfung wiederholte Plattenaussaaten ergaben in der Reihe Ws a von 12 Serumzuchten 11 mit Kapseln, eine wurde bei der 2. Uebertragung als sehr selten Kapseln bildend erkannt. Von den 12 Serumzuchten der Reihe Wb a wuchsen 6 tierisch, mit beigemengten Kulturformen, 5 zeigten nur sehr seltene Kapselansätze, eine wurde erst bei der nächsten Uebertragung als sehr selten Kapseln bildend erkannt.

Nach 10 Tagen sind sämtliche 10 angelegte Serumzuchten der Reihe Ws b rein kapselnbildend, in der Reihe Wb b nur 3, während die anderen Kulturformen mit mehr minder reichlicher Kapselbildung zeigten.

Nach 13 Tagen sind 15 Kulturen der Reihe Ws c auf Serum rein kapselbildend, aber auch von der Reihe Wb c bilden 8 noch reichlich, 7 selten Kapseln. Schon bei den Plattenaussaaten dieser Reihen fiel die geringe Zahl der aufgegangenen Kolonieen, namentlich bei Ws auf, bei der nächsten Plattenaussaat nach 20 Tagen mußten von Ws 3 Platten mit 5 Oesen Aufschwemmung angelegt werden, um die Zahl von 20 abimpfbaren Kolonieen zu erhalten. Alle daraus herangewachsenen Serumzuchten der Reihe Ws d bildeten Kapseln, von der Reihe Wb d wuchsen 4 Kolonieen rein bekapselt, 7 zeigten Kulturformen überwiegend, aber dabei zahlreiche, 9 sehr seltene Kapselbildung.

Die nächste Aussaat nach 30 Tagen lieferte von Ws keine, von Wb nur noch sehr spärliche Kolonieen aus je 4 Oesen Aufschwemmung mehr, weshalb der Versuch abgebrochen werden mußte.

Es unterliegt danach keinem Zweifel, daß der Serumschutz gegen die Abschwächung bei 42° nur ein mittelbarer ist; der Bacillus, der einmal Kapseln gebildet hat, läßt sich nur sehr schwer bei dieser Wärme seiner Kapselbildung berauben, obwohl er unter sehr ungünstigen Verhältnissen sein Leben fristet und verhältnismäßig schnell zugrunde geht.

Der vorige Versuch, bei dem in der Mischung von Rinder- und Hühnerimmunserum bei 42° (Probe No. IV) kein Verlust der Kapselbildung eintrat, obwohl die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß unter solchen Umständen Kapseln nicht gebildet waren, bildet nur einen scheinbaren Widerspruch. Denn auch die kapselfreien Bacillen der Bouillonkultur (Reihen Wb), die, in Kochsalzlösung aufgeschwemmt, der Wärme von etwa 42° ausgesetzt waren, erweisen sich deutlich als weniger leicht beeinflußbar, als in den früheren Versuchen, wo sie, in Bouillon selbst gehalten, schon nach wenigen Tagen fast alle ihr Kapselbildungsvermögen bis auf geringe Reste verloren hatten. Das gibt einen Hinweis darauf, daß die Anhäufung von Stoffwechselerzeugnissen auch bei dem Pasteurschen Abschwächungsverfahren wesentlich an dem Ergebnisse beteiligt ist.

Was die durch die Abschwächung gewonnenen Milzbrandstämme betrifft, so ist es für dieselben bezeichnend, daß ihre Kapselbildung zwar nahezu, aber doch nicht ganz vollständig verschwunden ist. Es konnte in Anbetracht der Zeit, unter der diese Arbeiten durchgeführt wurden, nicht jede einzelne Kultur mit dem Zeitaufwande untersucht werden, der sonst wohl hätte darangesetzt werden müssen; sicher ist aber, daß selbst bei mehr als einen Monat dauernder Abschwächung bei über 42° in Bouillon, die wirklich ganz der Kapselbildung beraubten Stämme in verschwindender Minderheit gegenüber jenen sind, bei denen in Serum die ungeheure Mehrzahl der Bakterien ganz kapselfrei, meist in Form langer, untereinander verflochtener Fäden wächst, und nur ganz seltene, auf einzelne Stellen beschränkte Kapselbildung auftritt. Bereits Preisz hat solche Stämme gekannt. Die Kapsel tritt überaus oft mitten im Verlauf eines sonst vollkommen nackten Fadens an einem einzigen Gliede

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

desselben auf, während sie sonst im ganzen Aufstriche fehlt. Nicht selten sind diese Kapseln durch ihre Breite und die ausgesprochen rotviolette Färbung sehr auffallend. Es kann sehr schwer sein, diesen Rest der Bekapselung festzustellen, da erst auf Tausende von Kulturfäden ein solcher mit Kapselansatz kommt. Oefters wurden Kulturen in Serum als ganz kapselfrei bezeichnet, während erst bei den späteren Uebertragungen dieser nach dem eingehend studierten Stamme als E-Form bezeichnete Typus sich erkennen ließ.

Das Auftreten derart hochgradig in ihrer Kapselbildung geschädigten Stämme erfolgt wahrscheinlich nicht unvermittelt; wenigstens ließ sich sehr oft feststellen, daß am Anfange der Züchtung bei 42° Serumzuchten erhalten wurden, die zwar ebenfalls nur schwach Kapseln bildeten, bei denen der Befund solcher aber ungleich häufiger war als bei der E-Form.

Dieses auffallende Verhalten der gestörten Kapselbildung ist in hohem Grade erblich; ein Zurückführen der E-Form zu der Kapselbildung des Ausgangsstammes ist ebensowenig gelungen wie die Wiederverleihung der Kapselbildung an die bei höherer Temperatur abgeschwächten Stämme A und D, welche vollständig kapselfrei geworden waren. Die bloße Fortführung der Züchtung in Serum, welches, wie die hier und da auftretenden Kapseln beweisen, doch imstande sein muß, den nötigen Reiz auszuüben, hatte in keinem einzigen Falle Erfolg; es kam sogar vor, daß während der längeren Züchtung in späteren Kulturen keine Kapseln auftraten, um bei der nächsten Uebertragung wiederzuerscheinen.

Der am meisten untersuchte Stamm E war bei der Züchtung in Bouillon bei 42,7° nach 7 Tagen entstanden. Die 1., 2.—6. Uebertragung auf Serum (jedesmal 20-stündiges Wachstum bei 37°) ließ nichts von Kapselbildung erkennen, wenn auch bei der oft ungemein seltenen Bildung nicht behauptet werden kann, daß nicht doch solche vorhanden gewesen sein könnten. Erst in der 7. Serumzucht wurden Kapseln, teils an den Enden, teils im Verlaufe von sonst ganz nackten Fäden wahrgenommen. Die nächste Uebertragung ergab höchst vereinzelte, die nächste keine Kapseln, und so blieb das Bild durch etwa 40 Uebertragungen, die der noch in Untersuchung befindliche Stamm durchgemacht hat.

Ein anderer Stamm, F, gleichzeitig mit E entstanden, wurde ebenfalls erst bei der 7. Serumübertragung als zur E-Form gehörig erkannt; ein weiterer in Bouillon nach 6-tägiger Erwärmung entstandener Stamm H wurde bei der 6., ein weiterer, J, ebenfalls bei der 6., L erst bei der 12. Uebertragung als E-Form erkannt.

Es ist somit gelegentlich nicht ganz leicht, zu sagen, ob ein anfangs kapsellos wachsender Stamm die Kapselbildung wirklich vollständig verloren hat, oder ob als letztes Ueberbleibsel derselben die E-Form übriggeblieben ist. Anhaltspunkte dafür kann die Wuchsform in den Serumzuchten geben; wachsen in den ersten Uebertragungen vorwiegend lange, öfter mehr oder minder regelmäßig zopfartig verflochtene, nackte Fäden, so kann man ziemlich sicher sein, daß bei genauer Untersuchung oder bei späterer Weiterimpfung hier und da Kapseln auftreten werden. Rein kapsellose Formen wachsen in Serum meist nur in kurzen bis mittleren, voneinander getrennten Ketten, die sich sehr selten verflechten, während es öfter vorkommt, daß eine Anzahl von Einzelstäbchen in kleinen Haufen beisammenliegt.

Tierversuche mit solchen Stämmen mußten ein großes Interesse darbieten, da sie ja unmittelbar Gelegenheit zu der Feststellung geben, inwiefern die beim Serumwachstum dauernd und streng erblich herabgeminderte Kapselbildung mit einer Herabsetzung der Infektiosität zusammenhängt. Schon in einer früheren Mitteilung waren Stämme beschrieben worden, die ebenfalls nur wenig Kapseln außerhalb des Tieres

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bildeten, aber im Tiere die Kapselbildung zurückerlangten. Bei der E-Form ist dies aber nach Versuchen an Mäusen und Meerschweinchen keineswegs der Fall.

Maus 1 erhielt 0,5 ccm der 3. Serumübertragung des Stammes E unter die Haut. Oedembildung an der Impfstelle ließ sich nicht fühlen, der Tod trat in der Nacht des 4. Tages ein. An der Impfstelle war nichts, namentlich kein Oedem zu finden; die Milz war stark vergrößert, dunkel, die Leber sehr blutreich, fast schwarz. In allen Organen und im Blute fanden sich nicht allzu reichlich Milzbrandbacillen, meist mit sehr schön ausgebildeten Kapseln. Auf Agarplatten gingen von überallher reichlich Milzbrandkolonieen auf, deren Uebertragung in Serum aber entweder anscheinend ganz kapselfreie oder sehr selten kapselbildende Formen ergab.

Infolge dieses einigermaßen überraschenden Ergebnisses wurde eine andere Maus No. 2 mit 0,5 ccm der 7. Serumgeneration von E, in welcher zuerst die gemischte Natur des Stammes erkannt war, unter die Haut geimpft. Der Tod trat schon nach 26 Stunden ein. An der Impfstelle eine schwartig-eiterige Verdickung, kein Oedem; Milz groß, dunkel; in allen Organen und im Herzen zahlreiche Kapselbacillen. Von den angelegten Platten abgeimpfte Serumzuchten (aus Herz und Milz) ergaben aber überall entweder anscheinend ganz kapselfreies Wachstum oder sehr seltene Kapselansätze.

Weiterführung der aus Maus 1 und 2 erhaltenen Serumzuchten auf frisches Serum ergab stets nur kapselloses Wachstum oder seltene Ansätze zu Kapseln (in der Folge wird diese seltene Kapselbildung in Serum einfach als Typus E bezeichnet werden).

Maus 3 erhielt 0,05 ccm der aus einer Kolonie von Oedem der Maus 1 gewonnenen Serumzucht und blieb leben.

Maus 4 erhielt 0,5 ccm der gleichen Zucht und starb ohne Oedembildung an der Impfstelle nach 27 Stunden. Milz groß, dunkel; überall, im Herzen nur mäßig zahlreich, Bacillen mit mehr oder weniger schön ausgebildeter Kapsel. Von Agarplatten abgeimpfte Serumzuchten wiesen Kapselfreiheit oder Typus E auf.

Maus 5 erhielt 0,1 ccm einer aus Milz von Maus 4 nach Platte angelegten Serumzucht unter die Haut (somit II. Mäusedurchgang). Eine deutliche Reaktion an der Impfstelle war während des Lebens nicht festzustellen; der Tod erfolgte nach $4^1/_2$ Tagen. Geringe Schwartenbildung an der Impfstelle mit viel Zellen, spärlichen Bacillen, sämtlich mit schönen Kapseln. In der sehr vergrößerten Milz und im Herzen zahlreiche Kapselbacillen. Von 12 der auf Agar aufgegangenen Kolonieen aus den verschiedenen Organen erwiesen sich gleichviele als anscheinend ganz kapselfrei und als Typus E.

Maus 6 erhielt 0,5 ccm der gleichen Serumzucht wie Maus 5 unter die Haut, und starb nach 28 Stunden. An der Impfstelle fand sich keine Veränderung, die Milz war groß und dunkel, und enthielt wie die anderen Organe und das Herzblut zahlreiche Milzbrandbacillen mit Kapseln. Wie schon bei den früheren Mäusen fand sich bei dieser besonders deutlich die Eigentümlichkeit, daß die Kapseln nicht nur zum Teil sehr groß und durch ihre starke Metachromasie auffielen, sondern daß sie auch oft unregelmäßig ausgebildet waren, indem die an einer Hälfte eines Bacillus normale Kapsel in der anderen Hälfte viel stärker, förmlich angeschwollen war. Von Agarplatten angelegte Serumzuchten verschiedener Organe wuchsen teils ganz kapselfrei, teils als Typus E.

Maus 7 erhielt 0,1, Maus 8 0,5 ccm einer Serumzucht aus Herzblut von No. 6 unter die Haut. Die Tiere starben nach 3 und 2 Tagen, zeigten an der Impfstelle kein eigentliches Oedem, sondern mehr schwartige Infiltrate. Milz groß, überall Kapselbacillen. Ueber Agarplatten auf Serum angelegte Zuchten ergaben kapselloses Wachstum oder Typus E. Aus Impfstelle, Milz, Leber und Herzblut von Maus 7 wurde unmittelbar in Serum abgeimpft, aber auch diese Zuchten ergaben Kapselfreiheit oder nur Ansätze zur Bildung von Kapseln. Eine Maus No. 9 wurde mit etwa $^1/_6$ der Milz von No. 7 in eine Hauttasche geimpft. Es bildete sich kein eigentliches Oedem aus, doch konnten an den folgenden beiden Tagen von der Impfstelle durch Agarplatten 200, beziehungsweise 13 Kolonieen gewonnen werden, die, auf Serum übertragen, kapsellos wuchsen. Das Tier starb in der Nacht des 4.—5. Tages, hatte kein Oedem, Milzvergrößerung und mäßig zahlreiche Kapselbacillen. Die unmittelbar aus Herz und Milz, sowie die aus verschiedenen Organen über Agarplatten angelegten Serumzuchten ergaben Kapselfreiheit oder Typus E.

Maus 10 erhielt 0,05 ccm einer Serumzucht aus der Milz von Maus 8 (von einer Kolonie der mit Milz angelegten Platte, somit IV. Mäusedurchgang) unter die Haut, und lebte fast 6 Tage. Kein Oedem, Milz groß, überall zahlreiche Kapselbacillen, die aber bei unmittelbarer Uebertragung auf Serum kapselfrei oder als Typus E wuchsen.

Maus 11 erhielt 0,5 ccm der gleichen Zucht wie No. 10 unter die Haut und starb nach genau 48 Stunden ohne Oedem mit starker Milzvergrößerung und zahlreichen Bacillen mit oft übermäßig entwickelten Kapseln. Sowohl unmittelbare Züchtung in

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Serum als vorhergehende Agarplattenzucht ergab ausnahmslos entweder kapselloses Wachstum oder Typus E.

Maus 12 erhielt ein reiskorngroßes Stück der Leber von Maus 11 in eine Hauttasche und starb nach 46 Stunden. An der Impfstelle hatte sich kein merkbares Oedem ausgebildet, das Impfstück lag, fast ohne Erscheinungen hervorgerufen zu haben, unter der Haut; es war stark von Leukocyten durchsetzt und enthielt nur wenige, aber schön bekapselte Bacillen, die sich etwas zahlreicher in Leber und Milz, nur spärlich im Herzen vorfanden. Unmittelbare Uebertragung von Milz, Leber und Herz in Serum ergab nur kapselfreies Wachstum, über Agarplatten abgeimpfte Kolonieen ergaben teils dieses, teils Typus E. Eine dieser Serumzuchten tötete mit 0,05 ccm die Maus 13 in 24, mit 0,5 ccm die Maus 14 in 29 Stunden; nur bei der letzteren fand sich geringste Oedembildung vor, die Milz war bei beiden Tieren stark vergrößert, Kapselbacillen waren überall reichlich, Serumkulturen unmittelbar oder über Agarplatten erhalten, waren kapsellos oder Typus E.

Maus 15 erhielt 0,1 ccm etwa 1:4 verdünnten Blutes von Maus 14 unter die Haut und starb erst nach 6 Tagen. Oedembildung und überhaupt jede Erscheinung an der Impfstelle fehlte, Milz vergrößert, in den Organen recht zahlreiche, im Herzblut viel spärlichere Kapselbacillen, die, in Serum übertragen, ohne oder nur mit sehr seltenen Kapseln wuchsen.

Maus 16, mit 0,25 ccm etwa 1:4 verdünnten Blutes von Maus 15 geimpft, starb nach 3 Tagen ohne Oedem, mit großer Milz und mäßig zahlreichen Bacillen in den Organen, spärlichen im Herzen. Die überall vorhandene Kapsel bildete sich bei unmittelbarer oder mittelbarer Serumimpfung nicht aus.

Mit einer Serumzucht aus einer Kolonie der mit Leber angelegten Agarplatte von Maus 16 wurde eine Reihe von 4 Mäusen geimpft; eine mit 0,001 ccm Kultur (wobei ein Ausstrich von 1 Oese der Verdünnung noch 380 Kolonieen lieferte) überlebte ohne Krankheit, die anderen starben nicht ganz regelmäßig nach 2—4 Tagen, alle ohne Oedem, mit vergrößerter Milz und mäßig zahlreichen bis zahlreichen Bacillen in den Organen und im Blute, alle mit Kapseln. Bei allen Tieren ergab die unmittelbar aus dem Blute und den Organen erfolgte oder die über Agarplatten kolonieweise Uebertragung in Serum kapselfreies oder höchst kapselarmes Wachstum.

Mit diesem IX. Mäusedurchgange hörte die Reihe plötzlich auf, da die mit 0,05 und 0,25 ccm einer unmittelbar aus der Niere von Maus 18 erhaltenen Serumzucht geimpften Mäuse dauernd am Leben blieben.

Es ist somit durch die erfolgreiche, in lückenloser Reihe, teils unmittelbar, teils über Agarzüchtungen hinweg, 9fach fortgeführte Uebertragung im Mäusekörper keine Aenderung des Kapselbildungsvermögens außerhalb des Tierkörpers eingetreten; obwohl daselbst regelmäßige und oft sehr starke Kapselbildung erfolgt, hört dieselbe, bis auf geringe Reste, sofort selbst dann auf, wenn aus dem infizierten Organe oder Blute in Serum überimpft wird, welches, wie unzählige Kontrollversuche zeigten, beim unveränderten Ausgangsstamme vollkommene Kapselbildung hervorruft. Auch direkte Einimpfung vom Herzblut der gestorbenen Mäuse in (bluthaltiges) Mäuseserum ergab nur die E-Form. So wenig es gelungen ist, den völlig kapsellos gewordenen Milzbrand durch Tierimpfungen kapselhaltig zu machen, so wenig ist auch der kümmerliche Rest der Kapselbildung beim Stamme E wieder auf den Zustand des Ausgangsstammes zurückzuführen. Sehr interessant verliefen Versuche am Meerschweinchen, wo Stamm E gleichfalls zur Kapselbildung schreitet, ohne aber deswegen den septikämischen Tod dieser Tierart herbeizuführen, ein Verhalten, welches infektionstheoretisch die größte Beachtung verdient.

Meerschweinchen a erhielt am 16. Dez. 0,5 ccm Serumkultur E unter die Haut. Am nächsten Tage war eine geringe, am übernächsten eine pflaumengroße, gut abgegrenzte, derbe Anschwellung ausgebildet, die am 19. Dez. zu einem flachen Infiltrate geworden war. Zu dieser Zeit wurde in die gleiche Gegend 1 ccm Serumkultur eingespritzt, ohne daß dadurch eine stärkere Reaktion ausgelöst wurde; die Leistendrüse der gleichen Seite schwoll an. Bis zum 23. Dez. war alles zurückgebildet, das Tier magerte ab. Am 30. Dez. erhielt das Tier neuerlich 2 ccm Serumkultur E nach

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3 Mäusedurchgängen unter die Haut. Es bildete sich am nächsten Tage eine längliche, derbe, schmale Geschwulst aus, aus der sich eine eiterige Flüssigkeit ohne Phagocytose und sichtbare Bacillen gewinnen ließ. Auf Agar ließen sich daraus 4 Milzbrandkolonieen gewinnen, die ebenso wie die am nächsten Tage herausgezüchteten 7 bei der Uebertragung auf Serum entweder kapsellos oder als Typus E wuchsen. Am 9. Jan. war nur noch eine winzige Verhärtung an der Impfstelle vorhanden; neuerlich wurde der Satz von 2 ccm Serumkultur nach 5 Mäusedurchgängen eingespritzt. Es bildete sich am nächsten Tage ein geringes, flaches Infiltrat aus, das eiterige Flüssigkeit ergab; einige Leukocyten zeigten Phagocytose dicker, gut gefärbter, anscheinend tierischer Bacillen, die aber keine deutliche Kapsel zeigten. Freie Bacillen zeigten sich zwar groß und dick wie tierische Formen, hatten aber nur wenig deutliche Kapsel. Agarplatten lieferten etwa 100 Kolonieen, von denen 10 auf Serum kapselfrei oder als Typus E wuchsen. Einer Infektion mit 0,001 ccm Serumzucht des Ausgangsstammes erlag das Tier vom 21.—23. Jan. mit typischem Milzbrandbefunde.

Meerschweinchen b, vom 30. Dez. an wie a geimpft, verhielt sich ganz ähnlich und erlag gleichfalls der Infektion mit 0,001 ccm Serumzucht des Ausgangsstammes.

Meerschweinchen c erhielt am 25. Jan. den Satz von 1 ccm zentrifugierter Serumzucht des Stammes E nach 8 Mäusedurchgängen unter die Haut. Es zeigte am nächsten Tage kein Oedem, nur eine kleine Verhärtung, aus der sich stark eiterige Flüssigkeit gewinnen ließ, deren Leukocyten oft starke Phagocyeose dick angeschwollener kapselfreier Bacillen erkennen ließen. Solche fanden sich auch frei vor, meist aber ganz blaß. Die Kultur ergab 37 Milzbrandkolonieen, von denen 6, in Serum übertragen, kapsellos oder als Typus E wuchsen. Am nächsten Tage wies der Eiter aus dem kleinen, an der Impfstelle ausgebildeten Knötchen weder Phagocytose noch Bacillen mehr auf, die Agarplatte lieferte 4 Milzbrandkolonieen, die in Serum kapsellos wuchsen. Das Knötchen an der Impfstelle bestand noch einige Tage, ohne daß sich lebende Bacillen mehr nachweisen ließen.

Meerschweinchen d erhielt den Satz von 3 ccm der gleichen Serumzucht wie das Tier c unter die Haut. Am nächsten Tage war ein kleines Knötchen entstanden, bei dessen Entnahme mikroskopisch nichts, bei Züchtung 9 Milzbrandkolonieen gefunden wurden, die auf Serum kapsellos oder als Typus E wuchsen. Am 2. Tage ließ sich eiterige Flüssigkeit entnehmen, deren Leukocyten keine Phagocytose zeigten, die aber in geringer Zahl freie Bacillen enthielt, die gut gefärbt waren und eine deutliche, zum Teil sehr große Kapsel erkennen ließen. Auf der Agarplatte gingen etwa 70 Kolonieen auf, von denen 6, auf Serum übertragen, kapselloses Wachstum oder das des Typus E zeigten. Am 3. Tage hatte sich an der Impfstelle eine ziemlich große, längliche, derbe Geschwulst ausgebildet; Entnahme ergab zahlreiche Leukocyten, die hie und da Phagocytose sehr blasser Bacillen aufwiesen. Die freien Bacillen hatten alle schön entwickelte Kapseln. Aus der Agarplatte mit zahlreichen Kolonieen abgeimpfte Serumzuchten wiesen anscheinend ganz kapselfreies Wachstum auf. Von da ab waren in der Geschwulst stets Kapselbacillen nachzuweisen, die aber bei der Uebertragung von der Platte auf Serum ohne jede Ausnahme kapselfrei oder als Typus E wuchsen. Die Geschwulst vergrößerte sich später, doch nahm der Milzbrand ab, während kleine, ebenfalls bekapselte Diplokokken auftraten. Das Tier starb nach 14 Tagen an der Sekundärinfektion. Milzbrandbacillen konnten aus keinem Organe gewonnen werden.

Meerschweinchen e erhielt 0,1 ccm Herzblut der Maus 14 mit zahlreichen Kapselbacillen unter die Haut, hatte am nächsten Tage ein flaches, derbes Infiltrat, dessen Flüssigkeit Leukocyten mit Phagocytose und nicht selten freie, offenbar tierische Bacillen, aber mit nur schwachem Kapselsaume enthielt. Auf Agar wuchsen 240 Kolonieen, von denen 10 in Serum kapselfrei oder als Typus E wuchsen. Am 2. Tage war das Infiltrat bereits sehr zurückgegangen, die Entnahme lieferte zahlreiche Leukocyten, die oft Phagocytose zweifellos tierischer Bacillen zeigten, die sich auch frei vorfanden; die Agarplatte lieferte aber nur eine in Serum kapselfrei wachsende Kolonie. Später war kein Milzbrand aus dem Tiere mehr zu erhalten. Eine nach 12 Tagen vorgenommene Einspritzung des Satzes von 2 ccm Serumkultur E rief so gut wie keine Erscheinungen hervor. Das Tier erlag einer 17 Tage nachher erfolgten Infektion mit 0,001 ccm des Ausgangsstammes widerstandslos.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß die Infektiosität des Stammes E in sehr bedeutendem Grade abgeschwächt ist; schon an den Mäuseversuchen, noch mehr an denen mit Meerschweinchen ist dies zu erkennen. Der einzige Versuch, der am Kaninchen angestellt wurde, zeigte, daß nach Hauteinspritzung von 0,8 ccm Serumkultur eine rasch eiterig werdende Geschwulst auftrat, in der sich am Tage nach der Impfung mikroskopisch Bacillen von zweifellos tierischem Aussehen nach-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

weisen ließen, die aber in der Serumkultur kapsellos wuchsen. Am 2. Tage waren sie auch durch Züchtung nur noch spärlich, von da an nicht mehr nachzuweisen. Eine zweite Impfung mit 2 ccm Serumkultur führte zwar wiederum zu einer begrenzten Eiterung, aus der sich aber zu keiner Zeit lebende Bacillen gewinnen ließen.

Trotz dieser Abschwächung besitzt der Stamm aber noch immer die Fähigkeit der Kapselbildung. Bei der Züchtung in Serum kommt sie allerdings nur spurenweise zum Vorschein, im Tierkörper aber sind, wenn überhaupt Wachstum erfolgt, alle Bacillen mit Kapseln versehen, die nicht selten sogar ungewöhnlich stark entwickelt erschienen. Bei der Maus führt auch eine solche Entwickelung zum septikämischen Tode, wobei freilich darauf hingewiesen werden muß, daß gegenüber dem regelrechten Verlaufe des Milzbrandes merkbare Unterschiede bestehen. Diese sind die geringe oder ganz fehlende Ausbildung des Oedems an der Impfstelle, der vielfach ungewöhnlich lange Verlauf, die Unmöglichkeit, mit ganz geringen Bacillenmengen erfolgreich zu infizieren, die geringe Wirkung einer Verimpfung von Organen und Blut gestorbener Tiere und endlich auch das Aufhören der Infektiosität im Verlaufe der fortgesetzten Mäusedurchgänge. Beim Meerschweinchen ist die örtliche Eiterreaktion (mit Phagocytose) an Stelle der Oedembildung noch auffälliger; die Tiere überleben, und zu einer wirklichen Sepsis kommt es überhaupt nicht. Am stärksten mit einer leukocytären Reaktion am Orte der Impfung scheint das Kaninchen zu antworten, obwohl es bei dieser Tierart zu einer nennenswerten Vermehrung überhaupt nicht kommt.

Bedenkt man aber, daß trotzdem bei allen Tieren die Ausbildung von Kapseln mikroskopisch sichergestellt werden konnte, so ist diese Feststellung geeignet, die bisherige und bisher auch gut begründete Auffassung zu erschüttern, daß Vollausbildung des kapseltragenden tierischen Zustandes des Milzbrandbacillus mit seiner vollen Infektiosität gleichbedeutend sei. Richtig ist nur, daß eine septikämische Durchwucherung des Tierkörpers bisher nur unter Ausbildung dieses Zustandes beobachtet werden konnte, aber die bloße Fähigkeit, im Tiere Kapseln zu bilden, bedeutet noch nicht die vollkommene Wehrlosigkeit des Tieres gegen den Bacillus. Die Ausbildung des tierischen, kapselhaltigen Zustandes ist somit nicht die unmittelbare Ursache, wohl aber eine anscheinend unerläßliche Begleiterscheinung der vollen Infektiosität.

Es ist richtig, daß man bei der mikroskopischen Untersuchung einer am Stamme E gestorbenen Maus gewisse Unterschiede der Kapselbildung findet, und es ist bereits oben kurz erwähnt worden, daß nicht selten eine ganz besondere Art der Kapseln gesehen wurde: So färbte sich der Kapselsaum auffällig stark und meist ausgesprochen metachromatisch, und vor allem fiel mitunter die ungleichmäßige Ausbildung der Kapsel auf, die an der einen Hälfte des Bacillus sehr stark, förmlich aufgequollen, an der anderen weit schwächer entwickelt war. Aber das sind doch nur Einzelheiten, und im ganzen würde selbst ein sehr geübter Untersucher bei der Sektion einer mit dem Stamme E tödlich infizierten Maus schwerlich daran zweifeln, das Bild einer regelrechten Milzbrandinfektion vor sich zu haben. Erst eine weitere Untersuchung mit Impfung anderer Tiere und namentlich die Prüfung der Züchtung in Serum würde ihn auf die bestehende Abschwächung aufmerksam machen.

Es bleibt nur übrig, anzunehmen, daß zur Ausbildung der Kapsel ein besonderer Reiz notwendig ist, der für den Ausgangsstamm nur

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schwach zu sein braucht, etwa so wie ihn Serum schon außerhalb des Tieres auszuüben vermag. Die Abschwächung kennzeichnet sich dadurch, daß dieser als gering anzusehende Reiz zur Ausbildung der Kapsel nicht mehr genügt oder dieselbe nur noch sehr unvollkommen hervorruft. Erst der stärkere, vom lebenden Tierkörper ausgehende Reiz erzeugt bei solchen Stämmen noch Kapseln, und zwar nicht mehr an vereinzelten Stäbchen, sondern durchwegs. Nur so lange, als dieser Reiz unmittelbar anhält, besteht die Kapselbildung weiter, um sogleich aufzuhören, sobald die Ueberpflanzung in ein Mittel geringerer Reizwirkung erfolgt. So erklärt sich der regelmäßig erhobene Befund, daß unmittelbare Ueberimpfung von Blut oder Organen gestorbener Mäuse in Serum wieder nur kapsellose Bacilllen oder den Typus E ergibt. Wiederholt konnte bei Untersuchung derartiger Serumzuchten, bei denen die Ueberimpfung bacillenreicher Organe, z. B. Milz, reichlich erfolgt war, beobachtet werden, daß die kapseltragenden, eingeimpften Bacillen unter den bekannten Veränderungen einfach abstarben, während aus ihnen heraus nackte Fäden erwuchsen. Es liegt dann aber auf der Hand, daß die bekapselten Bacillen des Stammes E denen des Ausgangsstammes unmöglich gleichwertig sein können; diesen muß außer der Kapselbildung noch etwas anderes zukommen, was ihre Infektiosität erklärt.

In diesem Zusammenhange sei auch auf sehr oft beobachtete Phagocytoseerscheinungen hingewiesen, die bei Meerschweinchen zwar nicht in sehr großer Ausdehnung, doch ziemlich regelmäßig wahrgenommen wurden. Phagocytose wurde hauptsächlich von großen, polynukleären Leukocyten ausgeübt und betraf Bacillen, die nach ihrem ganzen Aussehen zweifellos als tierisch angesprochen werden mußten, wenn auch an ihnen selbst keine deutliche Kapsel mehr wahrzunehmen war; nicht allzu selten war aber auch ganz deutlich zu erkennen, wie bekapselte Bacillen aufgenommen worden waren.

Wie aus der früher gegebenen Darstellung der planmäßigen Abschwächung hervorgeht, war die Zahl der aus Einzelkolonieen herangezüchteten, in ihrer Kapselbildung veränderten Stämme eine sehr große, und namentlich der Typus E überwog so sehr, daß es sehr wahrscheinlich wird, daß die Abschwächung in Bouillon bei etwa 42° überhaupt nicht weiter, jedenfalls nur selten bis zum vollkommenen Verluste der Kapselbildung geht. Aber auch unter den Stämmen, die bei der bloßen Serumkultur als Typus E angesprochen werden müßten, also nur selten Ansätze zur Kapselbildung zeigen, gibt es Unterschiede, und wer sich die Mühe nehmen könnte, eine größere Anzahl eingehend zu untersuchen, würde sicher alle möglichen Abstufungen in dem Verluste der Kapselbildung und der Infektiosität feststellen können.

Ein Stamm F, gleichzeitig mit E gewonnen, verhielt sich ziemlich übereinstimmend mit diesem, soweit dies aus einem zweimaligem Mäusedurchgange und einzelnen Meerschweinchenversuchen geschlossen werden kann. Die Meerschweinchen, welche die Hautimpfung damit überstanden hatten, erwiesen sich bei einer Nachimpfung mit 0,001 ccm Serumkultur des Ausgangsstammes als in keiner Weise geschützt.

Anders verhielt sich ein Stamm N, der bei der Züchtung im Menschenserum (s. oben) bei 42° nach 36 Tagen entstanden war (Reihe Sm d). Er erschien anfänglich vollständig kapselfrei und wuchs im Serum meist in Form mittellanger, nicht verknäuelter Fäden. Eine Plattenaussaat nach 3 Serumzuchten und Untersuchung von 6 Einzelkolonieen schien ebenfalls Kapselfreiheit zu ergeben. Eine dieser Zuchten erhielt

Meerschweinchen a in der Menge von 0,5 ccm unter die Haut. Am nächsten und übernächsten Tage zeigte sich ein schwaches Oedem; die daraus entnommene Flüssigkeit enthielt reichlich Leukocyten, deren einige starke Phagocytose dicker, offenbar

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tierischer, aber kapselloser Bacillen zeigten. Daneben fanden sich aber auch freie Bacillen mit sehr gut entwickelten Kapseln. Agarplatten ergaben reichlich Kolonieen, von denen 5, auf Serum übertragen, entweder kapselfrei oder als Typus E wuchsen.

In den weiteren Tagen wuchs an der Impfstelle die Schwellung unter zunehmender Derbheit an, ergab stets den gleichen Befund zahlreicher Leukocyten mit Phagocytose, die öfters unzweifelhaft bekapselte Bacillen betraf, und freier, durchaus tierischer Bacillen. Ebenso ergab die täglich vorgenommene Züchtung auf Agarplatten und die Ueberimpfung einer Zahl von Kolonieen auf Serum ausnahmslos Kapselfreiheit oder Typus E. Das Tier starb nach 9—10 Tagen. Es fand sich an der Impfstelle ein schwartig-eiteriges Infiltrat ohne Oedem der Umgebung, darin der gleiche Befund wie während des Lebens des Tieres. Die Milz war stark vergrößert und enthielt ebenso wie Leber und Herzblut zahlreiche tierische, kapselhaltige Bacillen. Unmittelbare Uebertragungen von Milz, Leber und Herz in Serum lieferten kapsellose Bacillen oder Typus E, das gleiche war bei Abimpfung von Kolonieen aus den angelegten Platten der Fall.

Ein frisches Meerschweinchen b erhielt ungefähr 0,25 cem Blut aus dem Herzen von a unter die Haut. Es zeigte am nächsten Tage eine geringe Schwellung, die sich bald in ein derbes flaches Infiltrat umwandelte. Zunächst waren Bacillen nur durch Züchtung, vom 2. Tage auch mikroskopisch in bekapseltem Zustande nachzuweisen. Serumzüchtung aus Kolonieen von Agarplatten ergab stets nur Kapselfreiheit oder Typus E, ebenso unmittelbare Serumimpfung aus Blut und Organen des nach 3 Tagen mit Eiterung an der Impfstelle und vergrößerter Milz gestorbenen Tieres. Eine aus einer Agarkolonie vom Herzen dieses Tieres gewonnene Serumzucht diente in der Menge von 0,25 ccm zur Hautimpfung des Meerschweinchens c, welches während des Lebens an der Impfstelle keine deutliche Veränderung erkennen ließ. Nach dem nach 3 Tagen erfolgten Tode wurde an der Impfstelle ein winziger Eiterheerd ohne jedes Oedem der Umgebung beobachtet, sowie starke Milzvergrößerung. Kapselbacillen waren überall reichlich, ihre unmittelbare oder mittelbar über Agarplatten vorgenommene Züchtung in Serum ergab wiederum Kapselfreiheit oder Typus E.

Der Stamm N war durch bloßes Wachstum auf Serum von dem Stamme E nicht zu unterscheiden; daß er gleichwohl eine ganz andere Art der Abschwächung seiner Infektiosität erlitten hatte, zeigte sich erst im Tierversuche; er bildet in jeder Hinsicht einen Uebergang vom Typus E zum Ausgangsstamme. Die geringe Abschwächung, trotz der 36-tägigen Züchtung bei 42°, erklärt sich ohne weiteres aus seiner Züchtung in Serum, dessen Abschwächungsschutz somit auch in den daraus erhaltenen, anscheinend kapselfreien Zuchten noch erkennbar bleibt.

Wieder eine andere Abschwächungsweise zeigte eine Anzahl Stämme, die aus dem gleichen Versuche mit Menschenserum nach 18 Tagen gewonnen waren. Diese, die Stämme Sm c 8 und 11, wiesen bei der ersten Uebertragung von der Platte auf Serum überwiegend nackte Kulturformen auf, doch so, daß fast in jedem Gesichtsfeld mehrere Kapselansätze sich fanden. Um zu sehen, ob diese Form nicht wieder zum Ausgange zurückschlagen würde, wurden beide Stämme täglich, und zwar im ganzen 18mal, auf frisches Serum übertragen, ohne daß sich der Befund bei der mikroskopischen Untersuchung im geringsten änderte. Es fand weder eine Zu- noch Abnahme der restlichen Kapselbildung statt. Tierversuche wurden nicht angestellt.

Was bei all den erwähnten Versuchen, wie auch beim Studium anderer, hier nicht erwähnter Stämme, die sich den erwähnten, mehr oder weniger eng anschließen, auffällt, das ist die ausgesprochene Erblichkeit, die jede Veränderung des Kapselvermögens besitzt, und die ungemeine Zähigkeit, mit der diese Erblichkeit unter allen Umständen festgehalten wird. Es wäre ja zu erwarten, daß nach Erfahrungen mit sehr vielen anderen Bakterien, durch beständige Tierimpfung schließlich eine Wiederherstellung der Infektiosität und damit wahrscheinlich auch der Kapselbildung eintrete. Das war nicht der Fall, und es besteht sehr wenig Hoffnung, daß etwa der Stamm E, der durch so zahlreiche Mäuse

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gegangen war, jemals wieder in den Ausgangsstamm zurückverwandelt werden könnte. Nicht einmal beim Stamme N, dem doch ein ausgesprochenes Infektionsvermögen für Meerschweinchen zukommt, hat ein dreifacher Durchgang durch diese Tierart sein ursprüngliches Verhalten ändern können, und es sei hier auf eine weit zurückliegende Erfahrung von Koch, Gaffky und Löffler verwiesen, die eine abgeschwächte Kultur untersuchten, welche wohl noch Mäuse, nicht aber Meerschweinchen tötete und nach 17 Uebertragungen auf Mäuse sich nicht verändert hatte; es ist kaum zu bezweifeln, daß diese Kultur dem Stamme E entsprochen hat.

Berücksichtigt man die in der vorliegenden Mitteilung beschriebenen Abänderungen des Milzbrandbacillus, so ist die durch alle Stufen hindurch erfolgende, allmähliche Abänderung einer Bacilleneigenschaft nicht zu verkennen. Von Stämmen, die der Kapselbildung vollkommen und auf Nimmerwiederkehr beraubt sind, bis zu den Stämmen, die sich etwa wie Sm c 8 verhalten, gibt es Uebergänge, deren Zahl ohne Zweifel leicht vermehrt werden wird, sobald jemand auf ein derartiges Studium genügend Zeit und Material verwenden kann. Es erscheint möglich, eine so wichtige, physiologische Eigenschaft, wie es die Kapselbildung ist, förmlich schrittweise abzubauen.

Unter solchen Umständen ist es erlaubt, zu fragen, ob die anscheinend plötzlich, als Mutationen, auftretenden Veränderungen von Bakterieneigenschaften in Wirklichkeit so sprunghaft erfolgen, oder nicht vielmehr das Endergebnis eines durch viele Stufen hindurch erfolgenden Abbaues sind. Das würde dann auch die hohe, wie es hier scheint, vollkommene Erblichkeit derartiger Veränderungen am besten erklären.

Was die Abschwächung des Milzbrandbacillus betrifft, so eröffnen die bisher mitgeteilten Versuche die Möglichkeit, wenn nicht Wahrscheinlichkeit, daß dieselbe in verschiedenen Richtungen verläuft. Dazu führt unmittelbar ein Vergleich des Verhaltens der früher gewonnenen Stämme A und D mit den jetzt eingehender studierten des Typus E. Erstere sind der Kapselbildung und auch der Infektiosität vollkommen beraubt, wenn sie auch noch eine gewisse Pathogenität zu entfalten vermögen. Ihre Einimpfung in Tiere ruft ohne eigentliche, jedenfalls ohne auffallende Vermehrung bei allen Tieren die Bildung von Oedem hervor und hinterläßt Immunität gegen den Ausgangsstamm. In ganz merkwürdigem Gegensatze dazu hat der Typus E die Fähigkeit, Oedem zu bilden, bei allen Tieren verloren und erzeugt eine mehr oder weniger ausgesprochene Eiterung an der Impfstelle; und obwohl er bis zu einem gewissen Grade noch infektiös, d. h. der selbständigen Vermehrung im Tiere fähig genannt werden muß, hat das Ueberstehen einer oder selbst einer mehrfach wiederholten Impfung niemals Immunität ergeben. In dieser Hinsicht sind bereits Parallelversuche mit unzweideutigem Ausgange an Meerschweinchen und Kaninchen angestellt. Das beweist auf das deutlichste, daß das Ergebnis der Abschwächungsversuche beim Milzbrandbacillus noch einer sehr eingehenden Analyse bedarf.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber Hühnerpest.

3. Mitteilung:

Ueber eine Varietät des Hühnerpestvirus.

[Aus dem nationalen bakteriologischen Institut in Buenos Aires (Direktor: Prof. R. Kraus).]

Von Prof. **R. Kraus** und Dr. **O. Loewy,** Wien.

I.

Eine unter den auf dem Markte gekauften Gänsen aufgetretene Erkrankung bildet den Ausgangspunkt der folgenden Untersuchung.

Auf Grund der negativen bakteriologischen und protozoologischen Blut- und Organuntersuchungen der zugrunde gegangenen Gänse handelte es sich wahrscheinlich um eine durch filtrierbares Virus hervorgerufene Infektionskrankheit.

Als nach ein paar Tagen ein in demselben Käfig befindlicher Fasan ebenfalls spontan zugrunde ging, wurden die Versuche in der angedeuteten Richtung fortgesetzt und bestätigten die gemachte Annahme. Das Gehirn des Fasans, bei welchem die bakteriologische und protozoologische Untersuchung auch negativ blieb, tötete nach subkutaner Injektion ein Huhn in zwei Tagen. Auch die weiteren Uebertragungen von Huhn auf Huhn fielen positiv aus, dagegen blieben diejenigen auf Kaninchen und Mäuse negativ.

In der Literatur ist unseres Wissens über eine spontane Gänseseuche durch filtrierbares Virus oder durch das Virus der Hühnerpest nichts bekannt. Aus den Untersuchungen von Kleine, Kraus und Schiffmann weiß man aber, daß Hühnerpest nur für junge Gänse auf subkutanem Wege infektiös ist, für ältere nur bei cerebraler Infektion. Haben wir es also in dem vorliegenden Falle mit einer Infektion durch Virus der Hühnerpest oder mit einer durch ein anderes filtrierbares Virus hervorgerufenen Krankheit zu tun? Um diese Frage zu entscheiden, wurden zunächst weitere Versuche bei alten Gänsen angestellt, da sich dieselben nach unseren Erfahrungen gegenüber dem Hühnerpestvirus von der Subcutis aus refraktär verhalten haben.

1. Versuch am 16. März.

Alte Gans wird intramuskulär mit Gehirn eines Huhnes, welches mit dem Gehirn des Fasans infiziert wurde, injiziert.

19. März. Gans krank.
20. „ Zuckungen des Kopfes.
21. „ Gans tot.

Subkutane Uebertragung des Gehirnes dieser Gans auf eine andere alte Gans:

25. März. Trübung der Cornea, Amaurose.
26. „ Lähmung, tot.

Ein gleichzeitig injiziertes Huhn geht innerhalb 24 Stunden zugrunde. Subdural und intramuskulär injizierte Kaninchen überleben.

Es ergibt sich demnach, daß das Virus auch für alte Gänse auf subkutanem Wege ebenso infektiös ist wie für Hühner. Um aber die Resistenz der uns zur Verfügung stehenden Gänse auch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gegenüber dem originären Hühnerpestvirus kennen zu lernen, wurden diesbezügliche Versuche angestellt.

Das zu diesem Zwecke benutzte originäre Hühnerpestvirus (Centanni, Lode) ist dasselbe, welches in unseren früheren Versuchen (Kraus und Schiffmann, Kraus und Doerr) verwendet wurde, und welches für alte Gänse bloß von der Subdura infektiös war.

Dieses Hühnerpestvirus wurde stets in Glyzerin bei niedriger Temperatur aufbewahrt und von Zeit zu Zeit passiert.

Versuch mit Hühnerpestvirus.

1) 21. März. Huhn wird subkutan infiziert und stirbt nach 24 Stunden.
2) 21. „ Gans wird in gleicher Weise infiziert und überlebt.
3) 21. „ Nach subduraler Infektion stirbt eine Gans innerhalb drei Tagen.

Auch auf Kaninchen und Mäuse übertragen, erweist sich dieses Virus als nicht infektiös.

Aber nicht bloß von der Subcutis, auch von der Conjunctiva aus konnte ein Unterschied der Infektiosität des neuen Virus gegenüber dem originären Hühnerpestvirus konstatiert werden.

Das originäre Hühnerpestvirus ist für Hühner von der Conjunctiva aus infektiös, nicht aber für Gänse. Demgegenüber aber gingen Gänse, die mit dem neuen Virus von der Conjunctiva aus infiziert waren, in 3 Tagen zugrunde. Tauben verhalten sich gleich wie die alten Gänse bei Infektion mit originärem Hühnerpestvirus; d. h. der subkutanen Infektion gegenüber verhalten sich ältere Tauben zumeist refraktär, wovon wir uns durch neuerliche Versuche wieder überzeugen konnten. Die subkutane Infektion mit dem neuen Virus tötete jedoch Tauben in 4—10 Tagen, ebenso wie alte Gänse.

Auch die Infektion mit Gehirn von Tauben auf Tauben und Hühner fällt, wie folgender Versuch zeigt, positiv aus:

27. Mai. Gehirn einer subkutan infizierten Taube (Verdünnung 1 : 1000).
2. Juni. Epileptische Anfälle.
3. „ Tot.
27. Mai. Gehirn von Huhn (neues Virus), 1 : 1000, Taube, intramuskulär.
2. Juni. Epileptische Anfälle.
5. „ Tot.

Endlich ist durch den gelungenen Nachweis, daß auch Filtrate, gewonnen mit Berkefeld-Kerzen, ebenfalls infektiös sind, der Beweis für die Charakterisierung dieses Virus als filtrierbares Virus gegeben, wofür außerdem noch die hohe Virulenz des Virus spricht.

Es ergibt sich demnach, daß die bei Gänsen und Fasanen spontan aufgetretene Infektion als eine durch ein filtrierbares Virus hervorgerufene Krankheit anzusehen ist. Ob aber das Virus als ein vom originären Hühnerpestvirus vollkommen verschiedenes Gänsepestvirus oder bloß als eine Varietät der Hühnerpest aufzufassen wäre, darüber dürften die folgenden Versuche entscheiden.

II.

Die Charakterisierung der filtrierbaren Virusarten ist heute noch eine ziemlich mangelhafte. Mittels Kultur gelingt es im allgemeinen nicht, das Virus zu bestimmen. Selbst wenn man z. B. die Kultur des Lyssavirus, des Virus der Poliomyelitis, des Hühnerpestvirus als sichergestellt annehmen würde, ist man nicht imstande, die Art des Virus

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mittels Kultur sicherzustellen. Der Nachweis mittels eigener Färbungen im Ausstrich ist ebenfalls ein ungenügender zur Charakterisierung einer bestimmten Art. Die intracellulären Einschlüsse, die allerdings mit wenigen Ausnahmen als spezifisch für eine Virusart anzusehen sind, finden sich aber nicht bei allen Virusarten. Es bleibt somit als sicherstes Kriterium für die Charakterisierung bloß das klinische Bild oder das Experiment.

Nur mittels des Tierexperimentes ist es gelungen, den Nachweis zu führen, daß das Lyssavirus von Fermi als eine Varietät des Lyssavirus anzusehen sein dürfte (Kraus und Fukuhara). Es hat sich nämlich ergeben, daß das Virus fixe der Pasteur-Institute Wien und Bukarest von der Subcutis aus weder bei Mäusen und Ratten, noch bei Kaninchen wirksam waren, zum Unterschied vom Lyssavirus Fermi (Sassari) und Virus fixe der Institute Krakau, Kiew und Odessa. Auch in Versuchen an Gänsen ergab sich ein Unterschied insofern, als das Virus fixe Wien subdural für Gänse sich als infektiös erwies, nicht dagegen das Virus Fermi.

Nachdem die Neutralisation des Virus Fermi mit einem rabiziden Serum, gewonnen mit Virus fixe, gelungen ist, so daß an der Identität der Virusarten nicht zu zweifeln ist, sind wir zu der Annahme gelangt, daß es 2 Typen des Lyssavirus geben dürfte, die sich vorderhand hauptsächlich durch die Art der Infektiosität unterscheiden lassen.

Wenn wir nunmehr diese Versuche und die mit dem Vogelpestvirus verallgemeinern, kommen wir zu dem Schlusse, daß es auch Varietäten vom Hühnerpestvirus, ebenso wie des Lyssavirus, geben dürfte. Mit dieser Auffassung ließen sich auch die Differenzen in den Versuchen mit Hühnerpestvirus in den Angaben verschiedener Autoren erklären.

So finden wir Angaben von Centanni vor, dem die Uebertragung des Hühnerpestvirus ohne weiteres auf Gänse und Enten gelungen ist. Auch v. Ostertag und Wolfhügel konnten Gänse infizieren. Kleine, sowie Kraus und Schiffmann gelang bloß die subkutane Infektion bei jungen Gänsen; die alten konnten nur auf cerebralem Wege infiziert werden. Lode und Gruber erhielten bei Tauben schwankende Resultate. Scheuerlen und Buhl gelang die Uebertragung auf Tauben überhaupt nicht.

Die Annahme, daß das neue Virus eine Varietät des Hühnerpestvirus ist, wird noch durch folgende Versuche erwiesen, in welchen es gelungen ist, Immunität mit dem originären Hühnerpestvirus gegenüber Infektionen mit dem fraglichen Hühnerpestvirus zu erzeugen, und in welchen Serum, gewonnen mit dem letzteren Virus, auch originäres Hühnerpestvirus zerstört.

Ebenso wie es artverwandte Bakterienarten gibt, dürfte durch die vorliegenden Versuche erwiesen sein, daß auch filtrierbare Virusarten Artverwandte besitzen.

III.

Trotz zahlreicher Versuche, eine Schutzimpfung gegen Hühnerpest zu finden, sind die bisherigen Resultate unbefriedigend ausgefallen.

Maggiora und Valenti berichten über erfolglose Versuche, das Virus durch Wärme, Austrocknen und Licht abzuschwächen. Maue, Russ, v. Prowazek gelangten mit dieser Art der Behandlung der Organe ebenfalls zu negativen Resultaten. Auch in unseren Versuchen, in welchen Rückenmark und originäres Hühnerpestvirus 5—20 Tage über Kali causticum gehalten wurden, verliefen resultatlos, insofern das Virus

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sich ebenso infektiös für Hühner, wie frisches Mark erwies. Wohl haben aber Versuche mit Rückenmark von infizierten jungen Gänsen aussichtsvollere Resultate ergeben. Wie bereits angeführt, hat Kleine und auch wir gezeigt, daß Hühnerpestvirus für junge Gänse auf subkutanem Wege infektiös ist. Das Rückenmark von subkutan infizierten jungen Gänsen läßt sich bereits nach 4 Tagen über Kali causticum derart abschwächen, daß eine Virulenz für Hühner und junge Gänse geschwunden ist.

Mit einem derart abgeschwächten Material wurden weitere Immunisierungsversuche angestellt. Eine einmalige subkutane Injektion mit dem abgeschwächten Virus vermochte bei Hühnern eine Immunität zwar nicht hervorzurufen, wohl aber gelang es mit diesem Virus, durch mehrmalige Injektion junge Gänse gegen eine nachträgliche subkutane Infektion mit Hühnerpestvirus zu schützen. Es gelang auch, alte Gänse (welche von der Subcutis aus sich als natürlich immun erwiesen, nicht aber gegen cerebrale Infektion) mit dem abgeschwächten Virus gegen subdurale Infektion zu schützen.

In den nun folgenden neuen Versuchen sollen die früher mitgeteilten fortgesetzt werden. Zunächst galt es, die Frage zu entscheiden, ob mit originärem Hühnerpestvirus Immunität gegen das neue Virus erzeugt werden dürfte. Die Entscheidung dieser Frage würde die gemachte Annahme, daß das neue Virus eine Abart des Hühnerpestvirus sei, wesentlich stützen. Da das originäre Hühnerpestvirus für alte Gänse von der Subcutis aus vollständig unschädlich ist, haben wir, wie aus den folgenden Protokollen hervorgeht, alte Gänse mit dem originären Hühnerpestvirus injiziert und mit dem neuen Virus nachträglich infiziert.

1. Versuch.

Gans bekommt am 21. und 27. März, 7. und 12. April subkutan konzentriertes originäres Hühnerpestvirus; am 20. April wird sie mit dem neuen Virus infiziert, subkutan, eine Verdünnung 1 : 1 000 000 — am 28. April wird die Dosis erhöht, 1 : 100 000 — am 2. Mai 1 : 1000 und am 17. Mai wird subdural Virus 1 : 1 000 000 injiziert. Die Gans bleibt gesund.

Kontrolle.

Gans subkutanes Virus 1 : 1 000 000 am 2. Mai.
6. Mai. Amaurose.
7. „ Tot.

2. Versuch.

Gans bekommt intramuskulär originäres Hühnerpestvirus am 7., 12., 17. und 22. April, und wird am 2. Mai mit dem neuen Virus 1 : 1 000 000 subkutan infiziert. 17. Mai subdurale Infektion 1 : 1 000 000. Lebt.

Kontrolle.

Gans subdural 1 : 1 000 000 am 17. Mai.
Am 19. Mai. Amaurose.
„ 20. „ Tot.

3. Versuch.

Gans intramuskulär originäres Hühnerpestvirus am 7., 12., 17. und 22. April.
Infektion intramuskulär am 2. Mai mit Virus 1 : 1 000 000,
„ 7. „ „ „ 1 : 1000. Lebt.

4. Versuch.

Gans intramuskulär Hühnerpestvirus am 7., 12., 17. und 22. April.
Infektion intramuskulär am 2. Mai mit Virus 1 : 1 000 000,
„ 17. „ „ „ 1 : 1000. Lebt.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß durch subkutane Vorbehandlung mit originärem Hühnerpestvirus

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

alte Gänse eine aktive Immunität gegen das subkutan infektiöse neue Virus erlangen.

Das Originalhühnerpestvirus, welches sowohl für Hühner als auch für junge Gänse infektiös ist, kann demnach, ohne erst abgeschwächt zu werden, als Vaccin für alle Gänse verwendet werden. Der folgende Versuch zeigt, daß selbst durch einmalige Vorbehandlung mit originärem Hühnerpestvirus Gänse immun gemacht werden können und der nachträglichen Infektion mit dem infektiösen Virus widerstehen.

1. Versuch.

Zwei Gänse intramuskulär originäres Hühnerpestvirus 2 ccm 1:10 am 27. Mai. Infektion am 10. Juni intramuskulär mit neuem Virus 1:10000; überlebt.

Kontrolle.

10. Juni. Infektion intramuskulär, Gans, mit Virus 1:10000 subkutan am 10. Mai tot am 14. Juni.

In der früheren Mitteilung konnte gezeigt werden, daß Rückenmark der intramuskulär mit Hühnerpestvirus infizierten jungen Gänse über Kali caust. bereits nach 4 Tagen so abgeschwächt wurde, daß es selbst bei Hühnern keine Infektion mehr hervorrief. Mit diesem Mark konnten auch Gänse immun gemacht werden. Interessant ist nun, daß das neue Virus sich anders verhält. Rückenmark der intramuskulär infizierten Gänse erwies sich selbst nach 15 Tagen, über Kali caust. getrocknet, infektiös. Auch das Rückenmark der mit originärem Hühnerpestvirus infizierten Hühner und der subdural infizierten alten Gänse läßt sich, wie früher gezeigt wurde, in dieser Weise nicht abschwächen. Die Gründe für die Verschiedenheit in der Resistenz der Marke gegenüber physikalischen Einflüssen konnten bisher nicht klargelegt werden.

IV.

Ueber Versuche mit Immunserum haben Maggiora und Valenti, Maue, sowie Kraus und Doerr berichtet. Es gelang, mit dem Immunserum in vitro Hühnerpestvirus zu zerstören, während präventiver Schutz nicht sicher zu erzeugen war. Zunächst sollten daher neue Versuche die Frage entscheiden, ob eine Serovaccination einen sicheren präventiven Schutz hervorzurufen imstande ist.

1) 0,5 Virus in der Verdünnung 1:1000 (filtriert durch Papier) + 0,5 Serum von einer Gans I, immunisiert mit originärem Hühnerpestvirus. Nach 24 Stunden wird die Mischung intramuskulär einem Huhn injiziert, und nach 14 Tagen erfolgt die Infektion mit demselben Virus (filtriert 1:1000); tot nach 5 Tagen.

Auch weitere Versuche mit Serum einer anderen Gans, welches ebenso in vitro wirksam war, gaben im Gemisch keine Schutzwirkung.

2) 0,5 Virus (1:100, filtriert durch Papier) + 0,5 Serum von Gans I, nach 24 Stunden Gans intramuskulär injiziert; nach 3 Wochen Infektion mit demselben Virus (filtriert 1:100 durch Papier), tot nach 6 Tagen. Ebenso negativ fiel ein anderer Versuch mit dem Serum einer zweiten immunisierten Gans aus.

Die einmalige Serovaccination genügt also nicht, um einen präventiven Schutz zu erzeugen.

Es wurde weiter Serum präventiv injiziert, um passiven Schutz zu erzeugen. Hühner bekommen subkutan:

10 ccm Serum von Gans I (immunisiert mit originärem Hühnerpestvirus) und werden nach 24 Stunden infiziert mit dem neuen Virus (1:1000, filtriert durch Papier).
5 „ Serum von Gans I (immunisiert mit originärem Hühnerpestvirus) usw.
1 „ „ „ „ I „ „ „ „ usw.
Ueberleben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kontrollhuhn ohne Serum stirbt nach 3 Tagen. Dasselbe Resultat ergibt sich in Versuchen mit originärem Hühnerpestvirus.

Damit ist ein weiterer Beweis für die Identität der beiden Virusarten erbracht.

Bei gleichzeitiger, aber getrennter Injektion von Serum und Virus erhielten wir negative Resultate, ebenso wie in Heilversuchen.

Es würde also nach dem Vorangehenden nicht bloß eine aktive Immunisierung mit Virus möglich sein, sondern auch eine präventive Seruminjektion ist imstande, Gänse und Hühner zu schützen.

Zusammenfassung.

1) Durch unsere bisherigen Untersuchungen über filtrierbare Virusarten ist nachgewiesen worden, daß es Varietäten, naheverwandte Arten der filtrierbaren Virus (Lyssa, Hühnerpest), geben dürfte.

2) Das Gehirn der subkutan injizierten jungen Gänse läßt sich über Kali causticum derart abschwächen, daß es als Vaccin für Hühner verwendet werden kann. Rückenmark der injizierten Hühner und älteren Gänse konnte in dieser Weise nicht abgeschwächt werden.

3) Das originäre Hühnerpestvirus ist für alte Gänse von der Subcutis nicht infektiös.

4) Das von uns gefundene, neue Virus infiziert auch alte Gänse von der Subcutis, zum Unterschied vom originären Virus, und ist als eine Abart des Hühnerpestvirus anzusehen.

5) Das originäre Hühnerpestvirus, subkutan alten Gänsen injiziert, erzeugt Immunität gegen das neue Virus.

6) Gänse, welche mit dem Hühnerpestvirus immunisiert sind, liefern ein pestizides Serum, welches imstande ist, das neue Virus in vitro zu zerstören.

7) Dieses Serum verleiht, Hühnern injiziert, Schutz gegen das neue und gegen das originäre Virus.

Literatur.

Kraus u. Schiffmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907.
Kraus u. Doerr, Ebenda. Bd. 46.
Maue, Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. 21. 1904.
Russ, V., Arch. f. Hyg. Bd. 59. 1906.
v. Ostertag, in Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Daselbst auch Literatur.

Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Nachdruck verboten.

Pouvoir immunisant de la salive et des glandes salivaires rabiques, c'est-à-dire, du virus rabique isolé de la substance nerveuse.

Contribution au mécanisme de l'immunisation rabique.

(II. Note.)

[Institut d'Hygiène de la Royale Université de Sassari.]

Par le Prof. **Claudio Fermi.**

Le but des présentes recherches fut non seulement de connaître le pouvoir d'immunisation de la salive et des glandes salivaires rabiques, du virus rabique isolé de la substance nerveuse, mais aussi celui, très important, de pouvoir ensuite expliquer le mécanisme de l'immunisation rabique. Je n'ai pas expérimenté avec les cultures de virus rabique, parce que les expériences entreprises dans notre Institut à ce propos eurent jusqu'ici des résultats négatifs. Des résultats négatifs eurent aussi, du reste, Marie à l'Institut Pasteur de Paris[1]), Bordet à Bruxelles, Volpino à Turin. Noguchi même en date du 30 avril m'écrivit que sa découverte n'at été confirmée par personne, et qu'on n'y réussirait qu'avec de grandes difficultés; voici ses paroles:

„Jusqu'à présent personne n'a confirmé ce travail. Cependant j'ai démontré mes préparations devant beaucoup de savants, tels que Theobald Smith, Metschnikoff, Sir Wm. Leishman, et en outre j'en ai fait des démonstrations devant beaucoup de sociétés médicales d'Europe, où mon travail a été accepté. Cependant cette cultivation n'est point facile à effectuer et je ne crois pas que l'on parviendra à la répéter sans beaucoup de difficulté."

J'ai expérimenté au contraire avec la salive et avec les glandes salivaires les plus riches en germes rabiques, c'est-à-dire avec celles de chiens affectés de rage furieuse, produite par le virus de rue.

Je n'ai pas rien trouvé à propos du pouvoir immunisant de la salive et des glandes salivaires rabiques.

Aussi Marie m'écrit:

„Je ne sais rien sur le pouvoir immunisant des cultures ou de la salive."

Et puis Noguchi m'écrit:

„Le pouvoir immunisant des cultures du virus rabique n'a pas encore été étudié par personne, mais je m'occupe moi-même de cette question à présent."

J'entrepris mes recherches sur la salive et sur l'émulsion acqueuse (solution physiologique) de glandes salivaires au lieu que sur les extraits

---

1) Voici ce que écrit Marie en date du 20 avril 1914:

„Dès les premiers travaux du Noguchi sur la culture du Tréponême, j'ai fait employer la technique qu'il proposait pour la culture du virus rabique. Résultats négatifs."

Lorsque sa note a paru dans le Journal de l'Institut Rockefeller, j'ai fait reprendre dans mon Laboratoire et j'ai répris moi-même des essais de cultures en suivant la technique donnée, très imparfaitement, par Noguchi. Résultats toujours négatifs.

Le Professeur Bordet de Bruxelles, a consacré à cette question de nombreuses expériences, en suivant toujours la technique de Noguchi: lui non plus n'a rien obtenus

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

glycérés de glandes salivaires selon Poor et Steinhardt, puisque ces extraits sont naturellement plus pauvres que la salive même et que l'émulsion des glandes salivaires même.

A. Pouvoir immunisant de la salive rabique.

Recherche I. On pratique 2 injections par jour, pendant 15 jours de 1 c.c. de salive phéniquée à 1 % d'un chien affecté de la rage furieuse (virus de rue), à des rats infectés auparavant de virus de rue, par voie sous-cutanée, en injectant en tout de 27 à 28 c.c. de vaccin.

Expérience de contrôle. Un rat infecté et non traité reste comme contrôle. (Tab. 1.)

L'expérience avec les résultats relatifs figurent dans le tableau ci-après.

Résultats: Il résulte de ce tableau, que la salive du chien hydrophobe (virus de rue) phéniquée à 1 % injectée par voie sous-cutanée, en raison de deux injections par jour, pendant 15 jours, à 1 c.c., se montre complètement privée du pouvoir immunisant pour les rats infectés au paravant de virus de rue, parce que tous les animaux moururent de rage.

Recherche II. On répète l'expérience précédente sur autres 4 rats.

Les expériences et les résultats rélatifs figurent dans les tableaux ci-après.

Résultats. Aussi cette expérience démontre l'absence de tout pouvoir immunisant dans la salive, en effet tous les rats moururent de rage.

Expérience III. Sur 6 petites souris infectées de virus de rue, par voie sous-cutanée, on pratique deux injections par jours, pendant 15 jours, chacune de 1 % de chien affecté de rage furieuse (virus de rue) en injectant en tout 7,5 c.c. de vaccin.

Expérience de contrôle: Deux souris infectées et non traitées restèrent pour le contrôle.

L'expérience avec les résultats rélatifs figurent dans le tableau ci-àprès.

Résultats: Il résulte de ce tableau, que la salive de chien hydrophobe injectée par voie sous-cutanée, à raison de 2 injections par jours, pendant 15 jours, de $^1/_4$ de c.c. à des souris, se montrait complètement dépourvue du pouvoir immunisant.

En concluant on peut donc dire que la salive de chien hydrophobe (Virus de rue) phénolisée à 1 %, injectée à raison de deux injections par jour, pendant 15 jours, à 1.c. chacune aux rats, et de $^1/_4$ c.c., aux souris, infectées auparavant de Virus de rue, par voie sous-cutanée, se démontre complètement privée de tout pouvoir immunisant, parce que les dits animaux, quoiqu'ils soient les plus faciles à être immunisés (tant que d'être sauvés à la proportion du 100 %, même de la substance nerveuse normale) moururent de rage.

B. Pouvoir immunisant de l'émulsion à 5 % dans l'acide phénique à 1 % de glandes salivaires de chien mort de Virus de rue.

Après avoir étudié le pouvoir immunisant de la salive, j'ai voulu étudier aussi celui de glandes salivaires du chien mort de Virus de rue, ce que je fis moyennant les expériences suivantes.

Recherche I. On fait à 5 rats, infectés auparavant de Virus de rue, par voie sous-cutanée, et à trois autres, infectés de Virus fixe, 2 injections par jour, pendant 15 jours de 1 c.c. d'une émulsion à 5 % phéniquée au 1 %, de glandes salivaires d'un chien mort de Virus de rue, en introduisant en tout 10—30 c.c.

Expérience de contrôle: Un rat infecté de Virus de rue et un autre, infecté de Virus fixe, non traités, restèrent comme contrôle.

Les expériences et les résultats rélatifs figurent dans le tableau ci-après (vide Tableaux).

Résultat: Il résulte de ces tableaux que l'émulsion au 5 % phénolisée à 1 % de glandes salivaires (sous-maxillaires) d'un chien affecté de rage furieuse (Virus de rue) injectée sous la peau, en raison de 2 injections par pour pendant 15 jours, à 1 c.c. se montre complètement privée du pouvoir immunisant pour les rats auparavant infectés de Virus de rue, parce que tous les animaux moururent de rage.

Recherche II. On répète l'expérience sur 5 rats avec les glandes salivaires d'un autre chien.

Expérience de contrôle. On infecte un rat de Virus de rue sans autre traitement.

L'expérience avec les résultats rélatifs figurent dans les tableaux ci-après. (Tab. 5.)

Résultats: Aussi cette expérience montre l'absence du pouvoir immunisant dans l'émulsion des glandes salivaires rabiques, parce que tous les rats infectés auparavant de Virus de rue et traités avec la dite émulsion moururent de rage.

En conclusion, donc, aussi les glandes salivaires, comme la salive de chiens mort; de rage furieuse se montraient complètement privées du pouvoir immunisant.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tableau 1.

Date	Animaux	Voie d'infection	Quantité injectée	Virus infectant	Date de l'immunisation	No. des injections par jour	No. des jours d'immunisation	Quantité injectée	Substance immunisante	Poids de l'animal	Quantité injectée	Date de la paralyse	Date de la mort
18. 12. 1913	rat 1	sous-cutanée	1/2 c. c.	Virus de rue	18. 12.	2	15	1 c. c.	Salive de chien affecté de rage de rue + acide phenique 1 %	.	26 c. c.	1. 1. 7 a	1. 1. 4 p
	,,	,,	1/2 ,,	,,	18. 12.	2	15	1 ,,	Idem	.	26 ,,	1. 1. 7 a	1. 1. 4 p
	,,	,,	1/2 ,,	,,	18. 12.	2	15	1 ,,	,,	.	28 ,,	2. 1. 9 a	2. 1. 6 p
	,,	,,	1/2 ,,	,,	18. 12.	2	15	1 ,,	,,	.	28 ,,	2. 1. 9 a	2. 1. 6 p
	,,	,,	1/2 ,,	,,	18. 12.	2	15	1 ,,	,,	.	28 ,,	2. 1. 9 a	2. 1. 6 p
	,,	,,	1/2 ,,	,,	18. 12.	2	15	1 ,,	,,	.	28 ,,	2. 1. 9 a	2. 1. 6 p
18. 12.	rat 1	sous-cutanée	1/2 c. c.	Virus de rue	.	.	.	.	Témoin	.	.	1. 1. 7 a	1. 1. 4 p

Tableau 2.

Date	Animaux	Voie d'infection	Quantité injectée	Virus infectant	Date de l'immunisation	No. des injections par jour	No. des jours d'immunisation	Quantité injectée	Substance immunisanté	Poids de l'animal	Quantité injectée	Date de la paralyse	Date de la mort
10. 4. 1914	rat 1	sous-cutanée	1/2 c. c.	Virus de rue	10. 4.	2	15	1 c. c.	Salive de chien affecté de virus de rue + acide phenique 1 %	.	30 c. c.	23. 4. 9 a	24. 4. 8 a
											30 ,,	23. 4. 9 a	24. 4. 8 a
											30 ,,	23. 4. 9 a	24. 4. 8 a
											30 ,,	23. 4. 9 a	24. 4. 8 a
10. 4.	rat 1	sous-cutanée	1/2 c. c.	Virus de rue	.	.	.	.	Contrôle	.		23. 4. 8 a	24. 4. 10 a

Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tableau 3.

Date	Animaux	Voie d'infection	Quantité injectée	Virus infectant	Date de l'immunisation	No. des injections par jour	No. des jours d'immunisation	Quantité injectée	Substance immunisante	Poids de l'animal	Quantité injectée	Date de la paralyse	Date de la mort
18. 2. 1914	souris 1	sous-cutanée	1/4 c. c.	Virus de rue	8. 2.	2	15	.	Salive de chien affecté de rage de rue sans acide phenique	.	7 1/2 c. c.	23. 2. 7 a	24. 2. 8 a
	,,	,,	1/4 ,,	,,	8. 2.	2	15	.	.	.	7 1/2 ,,	23. 2. 7 a	24. 2. 8 a
	,,	,,	1/4 ,,	,,	8. 2.	2	15	.	.	.	7 1/2 ,,	23. 2. 7 a	24. 2. 8 a
	,,	,,	1/4 ,,	,,	8. 2.	2	15	.	.	.	7 1/2 ,,	23. 2. 7 a	24. 2. 8 a
	,,	,,	1/4 ,,	,,	8. 2.	2	15	.	.	.	7 1/2 ,,	23. 2. 7 a	24. 2. 8 a
	,,	,,	1/4 ,,	,,	8. 2.	2	15	.	.	.	7 1/2 ,,	23. 2. 7 a	24. 2. 8 a
8. 2.	souris 1	sous-cutanée	1/4 c. c.	Virus de rue	.	.	.	.	Témoin	.	.	23. 2. 7 a	23. 2. 7 p
	,,	,,	1/4 ,,	.	.	.	.	.	.	.	.	23. 2. 7 a	23. 2. 7 p

Tableau 4.

Date	Animaux	Voie d'infection	Quantité injectée	Virus infectant	Date de l'immunisation	No. des injections par jour	No. des jours d'immunisation	Quantité injectée	Substance immunisante	Poids de l'animal	Quantité injectée	Date de la paralyse	Date de la mort
11. 11. 1913	rat 1	sous-cutanée	1/2 c. c.	Virus de rue	11. 11.	2	15	1 c. c.	Emulsion 5% de glandes salivaires de chien mort de virus de rue + acide phenique 1%	.	26 c. c.	24. 11. 6 p	25. 11. 10 a
	,,	,,	1/2 ,,	,,	11. 11.	2	15	1 ,,	Idem	.	30 ,,	29. 11. 8 a	29. 11. 3 p
	,,	,,	1/2 ,,	,,	11. 11.	2	15	1 ,,	,,	.	30 ,,	29. 11. 8 a	30. 11. 4 p
	,,	,,	1/2 ,,	,,	11. 11.	2	15	1 ,,	,,	.	30 ,,	29. 11. 8 a	2. 12. 8 a
	,,	,,	1/2 ,,	,,	11. 11.	2	15	1 ,,	,,	.	30 ,,	1. 12. 7 p	2. 12. 8 a
11. 11.	rat 1	sous-cutanée	1/2 c. c.	Virus de rue	.	.	.	.	Témoin	.	.	24. 11. 6 p	25. 11. 10 a
11. 11.	rat 1	sous-cutanée	1/2 c. c.	Virus fixe	11. 11.	2	15	1 c. c.		.	30 c. c.	1. 12. 8 p	2. 12. 12 a
	,,	,,	1/2 ,,	,,	11. 11.	2	15	1 ,,		.	30 ,,	5. 12. 3 p	6. 12. 8 a
	,,	,,	1/2 ,,	,,	11. 11.	2	15	1 ,,		.	30 ,,	5. 12. 3 p	6. 12. 8 a
11. 11.	rat 1	sous-cutanée	1/2 c. c.	Virus fixe	.	.	.		Témoin	.	.	18. 11. 9 a	19. 11. 11 a

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tableau 5.

Date	Animaux	Voie d'infection	Quantité injectée	Virus infectant	Date de l'immunisation	No. des injections par jour	No. des jours d'immunisation	Quantité injectée	Substance immunisante	Poids de l'animal	Quantité injectée	Date de la paralyse	Date de la mort
10. 4. 1914	rat 1	sous-cutanée	1/2 c. c.	Virus de rue	10. 4.	2	15	1 c. c.	Emulsion de glandes salivaires 5 % dans acide phenique 1 %	.	30 c. c.	23. 4. 12 a	23. 4. 7 p
	„	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30 „	23. 4. 12 a	23. 4. 7 p
	„	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30 „	23. 4. 12 a	23. 4. 7 p
	„	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30 „	23. 4. 12 a	23. 4. 7 p
	„	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30 „	23. 4. 12 a	23. 4. 7 p
10. 4.	rat 1	sous-cutanée	1/2 c. c.	.	.	.	.	.	Contrôle	.	.	22. 4. 8 a	23. 4. 9 a

Tableau 6.

Date	Animaux	Voie d'infection	Quantité injectée	Virus infectant	Date de l'immunisation	No. des injections par jour	No. des jours d'immunisation	Quantité injectée	Substance immunisante	Poids de l'animal	Quantité injectée	Date de la paralyse	Date de la mort
11. 11. 1913	rat 1	sous-cutanée	1/2 c. c.	Virus de rue	11. 11.	2	15	1 c. c.	Virus fixe 3 % + acide phenique 1 %	.	30 c. c.	vive	
	„	„	1/2 „	„	11. 11.	2	15	1 „	Idem	.	30 „	„	
	„	„	1/2 „	„	11. 11.	2	15	1 „	„	.	30 „	„	
	„	„	1/2 „	„	11. 11.	2	15	1 „	„	.	30 „	„	
	„	„	1/2 „	„	11. 11.	2	15	1 „	„	.	30 „	„	
11. 11.	rat 1	sous-cutanée	1/2 c. c.	Virus de rue	11. 11.	2	15	1 c. c.	Virus de rue 3 % + acide phenique 1 %	.	30 c. c.	vive	
	„	„	1/2 „	„	11. 11.	2	15	1 „	Idem	.	30 „	„	
	„	„	1/2 „	„	11. 11.	2	15	1 „	„	.	30 „	„	
	„	„	1/2 „	„	11. 11.	2	15	1 „	„	.	30 „	„	
	„	„	1/2 „	„	11. 11.	2	15	1 „	„	.	30 „	„	
11. 11.	rat 1	sous-cutanée	1/2 c. c.	Virus de rue	.	.	.	.	Témoin	.	.	24. 11. 7 p	26. 4. 7 a
	„	„	1/2 „	„	.	.	.	.	„	.	.	24. 11. 7 p	25. 11. 7 a

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

C. Pouvoir immunisant de l'émulsion du Virus fixe et du Virus de rue 3%.

Bienqu'il ne fusse pas indispensable, parce que des expériences semblables avaient été instituées et publiées par moi bien des fois, j'ai voulu cependant entreprendre la suivante recherche pour pouvoir opposer l'expérience de comparaison, considérant le pouvoir d'immunisation de l'émulsion de Virus fixe et de Virus de rue à 3%, je fis les recherches suivantes.

Recherches. Sur 10 rats infectés auparavant de Virus de rue, par voie sous-cutanée, on pratique 2 injections par jour, pendant 15 jours, d'un c.c. à 5 c.c. d'une émulsion de Virus fixe à 3% et à d'autres 5, d'une émulsion de Virus de rue, aussi au 3%, en acide phénique à 1%.

Expérience de contrôle: Pour contrôler on infecte sans les traiter des rats, de Virus de rue par voie sous-cutanée. Les expériences avec les résultats rélatifs figurent dans les tableaux ci-après.

Résultats: Il résulte de ce tableau, que l'émulsion à 5% de substance nerveuse rabique (Virus fixe) à différence de la salive et de l'émulsion de glandes salivaires rabiques, se montrait douée d'un fort pouvoir immunisant, puisque je réussis à sauver tous les rats infectés auparavant par voie sous-cutanée, comme de coutûme, de Virus de rue.

Résumé des résultats.

1) La salive de chien affecté de rage furieuse (Virus de rue) phénolisée à 1%, injecté à raison de 2 c.c. par jours, pendant 15 jours, d'un c.c. à des rats et de $^1/_4$ de c.c. à des souris se montre absolument privée du pouvoir immunisant, puisque tous les dits animaux infectés auparavant de Virus de rue, par voi sous-cutanée, moururent de rage ensemble au contrôle.

2) L'émulsion à 5% phénolisée à 1% se montre également privée du puvoir immunisant.

3) Tous les murides, au contraire, infectés comme ci-dessus et traités avec une émulsion de Virus fixe 5% phénolisée à 1% restaient en vie.

La démonstration de l'absence du pouvoir immunisant dans la salive et dans l'émulsion 5% de glandes salivaires, possède une valeur probante, parce que démontrée sur les animaux plus faciles à être immunisés (puisqu'ils se sauvent même avec une simple émulsion de substance nerveuse normale) et qui avaient été infectés par voie sous-cutanée.

Conclusions.

Avant de tirer les conclusions sur la comparaison entre le pouvoir immunisant de la salive des glandes salivaires et celui de la substance nerveuse rabique et sourtout avant d'enlever au Virus fixe isolé de la substance nerveuse tout pouvoir immunisant, il est nécessaire de décider si les trois agents immunisants susdits peuvent être comparés entre eux et surtout si l'on peut établir la comparaison entre la salive et la substance nerveuse rabique. On pourrait en effet objecter que l'absence du pouvoir immunisant dans la salive ne dépend point du fait que le virus rabique isolé est privé du dit pouvoir, mais bien parce que le Virus rabique dans la salive, s'y trouve dans un nombre insuffisant, par rapport à celui qui se trouve dans la substance nerveuse rabique.

J'ai déjà répondu à cette objetion dans le rapprochement que j'ai fait entre les doses minimes mortelles des trois substances (salive, glandes sali-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

vaires, substance nerveuse rabique) dans le travail spécial, publié à ce propos.

1. La dose minime mortelle de la salive rabique varie entre 1 : 3000 et 1 : 6000.

2. La dose minime mortelle des glandes salivaires sous-maxillaires varie entre 1 : 3000 et 1 : 8000.

3. D'ailleurs la salive ayant une densité 36 fois inférieure à la densité du tissu glandulaire il en résulte que la dose minime mortelle de la salive est 36 fois plus petite que la dose minime de la glande sous-maxillaire, c'est à dire que la virulence ou les nombres des germes rabiques dans la salive est 36 fois supérieure.

4. La dose minime mortelle de la substance nerveuse rabique (Virus fixe de Sassari et Virus de rue) éprouvée chez les murides, oscille entre 1 : 50000 et 1 : 70000.

5. Par conséquence la dose minime mortelle de la substance nerveuse est 10 fois plus petite, c'est à dire 10 fois plus riche de germes rabiques que la dose minime mortelle des glandes salivaires (1 : 5000). La densité de deux tissus étant presque égale, la proportion ne change pas.

6. La susdite dose minime mortelle de la substance nerveuse est presque 9 fois plus petite que celle de la salive (1 : 600); étant d'ailleurs la densité de la salive 33 fois inférieure à celle de la substance nerveuse il en vient par conséquence que la dose minime mortelle de la salive n'est plus 3 fois plus grande (c'est à dire que la quantité de germes rabiques, n'est plus 9 fois plus petite) que celle de la substance nerveuse, mais bien 24 fois (33—9 = 24).

On a confronté ensuite le pouvoir immunisant de la salive non déjà avec la substance nerveuse concentrée mais bien avec une émulsion au 5 % de substance nerveuse; et la salive contiendrait toujours 4 fois (21—20 = 4) plus de germes rabiques que l'émulsion 5 % de substance nerveuse; et par conséquence la salive serait toujours confrontable avec la substance nerveuse rabique.

En concluant le Virus rabique sans substance nerveuse (salive rabique)[2]) s'est démontré dépourvu de pouvoir immunisant.

En effet tandis que tous les animaux infectés avant de Virus de rue et traités pendant le même temps et de la même manière avec l'émulsion de Virus fixe et de Virus de rue se sauvèrent tous, au contraire tous les animaux traités avec la salive même moururent tous.

---

1) Etant admis, comme on a dit, que les germes rabiques se trouvent dans tout le tissu de la glande presque dans la même quantité.

2) Le Virus aussi des glandes salivaires. comme nous savons, est depourvu de pouvoir immunisant, mais dans les mêmes glandes se trouve, comme nous avons déjà demontré, en quantité presque 10 fois inférieure que dans la substance cérébro-spinale et par conséquence on pourrait objéter que l'absence du pouvoir immunisant des glandes salivaires dépend de la relative pauvreté des germes rabiques. Par mes recherches il resulte d'ailleurs que le pouvoir immunisant de la substance nerveuse rabique persiste aussi dans les dilutions I0—15 fois plus diluées, c'est-à-dire au 3.1 pour 1000.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ce fait est de tant plus important, que la salive rabique contenait 4 fois plus de germes rabiques que les germes contenus dans l'émulsion de Virus fixe et de Virus de rue au 5 %.

Dans la note prochaine sur le mécanisme de l'immunisation rabique je continuerai l'étude de cet important sujet.

Nachdruck verboten.

Vergleichende Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit verschiedener säurefester Bakterien gegen Antiformin.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Hygienischen Institutes der Universität Zürich (Direktor: Prof. Dr. Silberschmidt).]

Von Dr. med. **Anna v. Spindler-Engelsen,** Zürich.

Nachdem Uhlenhuth im Jahre 1908 seine ersten Veröffentlichungen über Antiformin gemacht hatte, ergoß sich eine Flut von Mitteilungen in medizinische und bakteriologische Zeitschriften, welche die Nachprüfung der neuen Methode zum Gegenstand hatten, darunter auch zwei Dissertationen, welche dasselbe Thema in etwas ausführlicherer Weise behandelten und den Schwerpunkt auf die praktische Verwertbarkeit legen.

Alle diese Arbeiten beschäftigen sich in erster Linie mit der Frage der Widerstandsfähigkeit des Kochschen Bacillus gegen Antiformin und kommen einstimmig zu dem Resultat, daß selbst 50-proz. Antiforminlösung diesen Bacillus nicht oder erst bei langdauernder Einwirkung auflöst.

Betreffs der Widerstandsfähigkeit der anderen sogenannten säurefesten Bacillen gegen Antiformin sind die meisten Autoren, mit Uhlenhuth, der Ansicht, daß wesentliche Unterschiede zwischen diesen und den Tuberkelbacillen nicht bestehen; nur drei von den der Verfasserin bekannt gewordenen Publikationen kommen zu abweichenden oder, besser gesagt, entgegengesetzten Resultaten.

Um eine Uebersicht über den jetzigen Stand der Frage zu geben, dürfte es am einfachsten sein, die diesbezüglichen Resultate aus den betreffenden Publikationen zusammenzustellen:

1) Uhlenhuth u. Xylander, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt. Bd. 31. 1909.

„Aufgelöst werden von Antiformin: Schleim, Eiter, Sputum, Kot, Keratin, Chitin, alle Protozoen und die meisten Bakterien.

Nicht gelöst werden: Baumwolle, Leinen, Tuberkelbacillen und die säurefesten Bakterien, Milzbrandsporen, die unbekannten Erreger der Schweinepest und Pocken."

2) Telemann, Walter, Deutsch. med. Wochenschr. 1910. p. 831.

„Tuberkelbacillennachweis." Den Smegmabacillus fand T. in mehr als 100 Ausstrichen des Smegmas Jugendlicher und Aelterer beider Geschlechter, sowie in $^3/_4$ aller Fälle bei mittels Antiformins ausgeführter Untersuchung von etwa 20 Urinabsätzen. (Gehalt der Antiforminlösung?)

3) Kersten, H. E., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. H. 5.

15-proz. Antiforminlösung tötet mit Sicherheit sämtliche Begleitbakterien ab, und so kann man die säurefesten Saprophyten isolieren und züchten.

4) Uhlenhuth (Originalbericht über die 2. Tagung d. Freien Verein. f. Mikrobiol. im Inst. f. Infektionskrankh. in Berlin 1908).

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

„Antiformin löst fast alle Bakterien.“ Biologisch hochinteressant ist die Tatsache, daß die Tb und andere säurefeste Stäbchen (Thimothee-, Butter-, Smegmabacillen) sich selbst gegen konzentrierte Lösungen von Antiformin refraktär verhalten.

5) Merkel, H., Der Tb-Nachweis mittels Antiformins und seine Verwendung für die Diagnose der Tuberkulose. (München. med. Wochenschr. 1910. p. 680.)

„Auch die übrigen säurefesten Bacillen widerstehen dem Antiformin.“

6) McFarland, Burville-Holmes, Beardsley and Case, The bacteriemia; theory of tuberculosis. (Journ. of the Amer. med. Assoc. Vol. 54. No. 8.)

Verff. fanden im destillierten Wasser mancher Laboratorien tuberkelbacillenähnliche Stäbchen.

7) Beitzke, Eine Fehlerquelle bei der Antiforminmethode. (Berlin. klin. Wochenschrift. 1910. No. 31.)

Das Leitungswasser, welches zum Wässern und zur Bereitung der Antiforminlösung benutzt wird, enthält oft zahlreiche säurefeste Stäbchen.

8) Schern u. Dold, Beiträge .... etc. (Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt. Bd. 38. 1911. p. 205.)

Bestätigen die Angaben von Brenn und Beitzke. Sie fanden in 5 verschiedenen Laboratorien in allen Hähnen und Schläuchen 2 verschiedene Bacillenarten, welche gegen Antiformin ebenso resistent zu sein scheinen wie Tb.

9) Titze, Ueber den Nachweis von Tb in den Ausscheidungen tuberkelbacillenverdächtiger Rinder unter besonderer Berücksichtigung der Antiforminmethode. (Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt. Bd. 43. 1913.)

Mikroskopisch lassen sich die Tb von manchen anderen säurefesten Bacillen nicht immer unterscheiden.

10) Hall, Herm., Ueber den Nachweis der Tb durch das Antiformin-Ligroin-Verfahren unter besonderer Berücksichtigung der Darmtuberkulose. [Dissert. Gießen.]

Säurefeste Butterbacillen, in 5-proz. Antiforminlösung verrieben, waren in jedem Falle nach 12 Stunden vollkommen verschwunden, während Tb nie gelöst wurden. Verf. sagt zum Schluß: Antiformin löst in 5-proz. Lösung in 25 Minuten, in 15-proz. Lösung in 10 Minuten sämtliche Bakterienarten, mit Ausnahme der Tb, auf. Diese Eigenschaft, nur die Tb, nicht aber die anderen säurefesten Bacillen unversehrt zu lassen, macht das Antiformin zu einem sehr brauchbaren Mittel, die echten Tb von den unechten zu trennen.

11) Schuster, G., Inwiefern genügt die mikroskopische Untersuchung auf Tb mit den neueren Färbemethoden zur Diagnose „Tb der Harnwege“? (Deutsch. med. Wochenschr. 1910. p. 1806.)

Antiformin zerstört die Smegmabacillen im Sedimente und in Reinkultur. Bei Behandeln des Urins mit 15-proz. Antiformin, aber auch schon bei 10-proz., waren in allen Fällen die Smegmabacillen verschwunden.

12) Bornand, Marcel, L'antiformine comme desinfectant et comme moyen de rechercher le mycobactérium tuberculosis. [Dissert.] Lausanne 1908.

Zunächst wird die absolute Widerstandsfähigkeit des Tb festgestellt. Weiterhin: „J'ai traité des cultures par des solutions d'antiformine à 50, 30, 15, 10 pour cent. Les bacilles acido-resistants sont promptement détrnits par ces différentes solutions, J'ai fait des ensemencements au bout de 2 à 10 heures, il n'y a pas eu de développement. A l'examen microscopique des cultures traitées je n'ai retrouvé que des débris de bacilles.“

So weit die Literaturangaben, welche für den vorliegenden Fall in Betracht kommen.

Verfasserin hatte während mehrjähriger Praxis im Untersuchungslaboratorium Gelegenheit, die Schwierigkeit einer genauen Differenzierung der Tb von anderen säurefesten Mikroorganismen in manchen Fällen kennen zu lernen. Die Antiforminmethode, welche im allgemeinen Ausgezeichnetes leistet, bildete in Anbetracht der oben erwähnten Meinungsdifferenzen kein ausreichendes Kriterium zur Entscheidung der Frage.

Infolge zahlreicher Beobachtungen verschiedenster Art, über welche vielleicht später zu berichten sein wird, erschien es wünschenswert, über die Resistenzfähigkeit der sogenannten säurefesten Bakterien gegenüber Antiformin Aufklärung zu schaffen. In folgendem sind die Resultate der diesbezüglichen Versuche enthalten, welche im bakteriologischen Laboratorium des Hygienischen Institutes der Universität Zürich ausgeführt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wurden; Herrn Prof. Silberschmidt, dessen liebenswürdiges Entgegenkommen die Ausführung der Arbeit ermöglichte, sei für sein Interesse an derselben und seine Unterstützung durch Rat und Tat an dieser Stelle bester Dank gesagt.

Ueber die Technik und sonstige Einzelheiten der Ausführung ist folgendes zu sagen:

Vor den Versuchen mit säurefesten Arten wurden zur Orientierung 2 Arten häufig vorkommender und leicht zu züchtender Kokken und Bacillen geprüft.

Die Antiforminlösungen wurden hergestellt durch Mischen von 5, 10, 25 und 50 ccm konzentrierten Antiformins (von Merck in Darmstadt) mit 95, 90, 75 und 50 ccm destillierten Wassers und diese Mischungen als resp. 5-, 10-, 25-, 50-proz. Antiformin-Stammlösungen bezeichnet. Entstandene Niederschläge wurden abfiltriert. Diese Lösungen wurden zu gleichen Volumteilen mit den Bakterienaufschwemmungen in Kochsalzlösung gemischt, so daß diese Mischungen $2^1/_2$, 5, $12^1/_2$ und 25 Proz. Antiformin enthielten. Schwächere Lösungen wurden durch entsprechende Verdünnung mit Kochsalzlösung erhalten, während 50-proz. Lösung durch Mischen der Bakterienaufschwemmung mit einem gleichen Volumen unverdünnten Antiformins hergestellt wurde. Das Abmessen erfolgte mit sterilen Pipetten.

Ferner wurde eine größere Anzahl Reagensröhrchen mit je 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung sterilisiert.

Von der zu untersuchenden Kultur wurde je eine Oese auf 1 ccm sterile Kochsalzlösung genommen und sorgfältig verrieben, bis eine gleichmäßige Aufschwemmung möglichst ohne makroskopisch sichtbare Flocken und Klumpen resultierte.

Zentrifugenröhrchen waren in größerer Anzahl im voraus sterilisiert; in ein solches kamen 2 ccm steriler Kochsalzlösung zum Kontrollversuch, in ein zweites 2 ccm der betreffenden Antiformin-Stammlösung, in jedes der beiden Röhrchen werden alsdann 2 ccm der Bakterienaufschwemmung zugegeben und durch Schütteln gemischt.

Diese Mischungen wurden in der Regel sofort 10 Minuten lang zentrifugiert, alsdann die Flüssigkeit vom Bodensatz möglichst vollständig abgegossen und letzterer 2mal mit je 5 ccm Kochsalzlösung durch Zentrifugieren gewaschen.

Nach Abgießen der zweiten Waschflüssigkeit wird in jedes der Röhrchen $^1/_2$ ccm Bouillon gegeben, gemischt und aus jedem Röhrchen je 1 Bouillon- und 1 Gelatine- resp. Agarkultur angelegt. Mit dem im Röhrchen haften bleibenden Rest wurden Ausstrichpräparate angefertigt.

Bei der Herstellung der Aufsschwemmungen wurde die Erfahrung gemacht, daß es nicht leicht ist, von einzelnen Kulturen, wie z. B. Smegma und Mesentericus, gleichmäßige Verreibungen herzustellen. Die Platinöse, selbst aus dickem Draht, biegt sich dabei, so daß es unmöglich ist, einen genügenden Druck zur Verteilung der zähen Masse auszuüben. Es wurde daher ein dünner Glasstab etwas ausgezogen und in der Flamme so geformt, daß das Ende die Form eines kleinen Löffelrückens hatte (in der Größe etwa eines Ohrlöffels) und auf der einen Seite abgeplattet war. Dies einfache, kleine Instrument, welches durch Auskochen leicht zu sterilisieren ist, hat sich zum Zerdrücken und Zerreiben zäher Kulturen ausgezeichnet bewährt. Nach dem Gebrauch wird

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

es sorgfältig sterilisiert und gereinigt; letzteres am besten in Schwefelsäure-Bichromatlösung [1]).

Betreffs der mit dem Zentrifugenrückstand angelegten Kulturen möchte Verf. im voraus einem naheliegenden Einwand begegnen, nämlich daß kleine, noch darin vorhandene Antiforminmengen die Entwicklung eventuell vorhandener, lebensfähiger Keime verhindert hätten. Es wurde festgestellt, daß weiteres Auswaschen das Resultat nicht veränderte. Außerdem sagt Bornand schon in seiner oben erwähnten Dissertation (No. 12) über denselben Punkt: „Les résultats obtenus .... montrent qu'il faut ajouter une quantité plutôt élevée d'antiformine au milieu de culture pour qu'elle empêche le développement des bactéries ensemencées. Par conséquent, ce n'est pas la petite quantité qui a été portée sur l'agar avec les cultures traitées qui a empêché le développement des bactéries."

Untersucht wurden:

a) nicht säurebeständige Bakterien:
Staphylococcus pyogenes aureus,
Bacillus mesentericus;

b) säurebeständige:
Bacillus smegmatis,
„ Moeller II (Grasbacillus),
„ Tobler IV (Butterbacillus),
„ tuberculosis anguis (Blindschleichentuberkulose),
„ „ typus bovinus,
„ „ „ humanus.

Die Bakterien blieben mit der Antiforminlösung im ganzen 25—30 Minuten in Berührung; wo bei den weiter unten beschriebenen Versuchen nichts weiter erwähnt ist, kommt also diese Einwirkungsdauer in Betracht.

Antiforminkonzentration	Kulturversuche nach $^1/_2$ Stunde A.-Einwirkung	Mikroskopische Präparate
	1. Staphylococcus pyogenes aureus.	
0	—	Die Kokken erscheinen ungleichmäßig in Größe und Färbung
0,05-proz.	Normal. Wachstum	
0,5 „	Kein Wachstum mehr; Kontrolle normal	Einfluß auf die Färbung nicht zu verkennen; Kokken meist schwach gefärbt und verkleinert, nur die größeren Individuen erscheinen widerstandsfähiger, d. h. besser gefärbt
1,0 „		
2,5 „		
5,0 „	Dgl.	Nur noch ganz vereinzelte, deutlich gefärbte Kokken zu finden
12,5 „	„	Keine Kokken mehr

1) Bichromat-Schwefelsäure, welche im chemischen Laboratorium zum Auflösen von verkohlten Destillationsrückständen in Kolben benutzt wird, scheint in bakteriologischen Laboratorien verhältnismäßig wenig bekannt zu sein. Dieselbe löst alle organische Substanz restlos auf, d. h. verbrennt sie, ist daher das einzig rationelle Mittel zum Reinigen von Objektträgern und Deckgläsern, Glasstäben etc. Am besten wird die oxydierende Kraft der Lösung durch die Tatsache illustriert, daß Diamantpulver mittels derselben zu Kohlensäure verbrannt wird. Die Herstellung geschieht sehr einfach, indem man in eine Flasche roher konzentrierter Schwefelsäure einen Löffel voll grob gepulverten Bichromates hineinschüttet und mischt. Die zu reinigenden Gegenstände werden mit der Lösung übergossen (in einem bedeckten Gefäße); dieselbe Lösung kann lange Zeit dienen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Antiformin-konzentration	Kulturversuche nach $^1/_2$ Stunde A.-Einwirkung	Mikroskopische Präparate
	2. Bacillus mesentericus.	
	a) Junge 24-stündige Kultur.	
0	—	Beginnende Sporulation, Sporen noch nicht deutlich abgegrenzt, aber Bacillenleib nur noch unvollkommen färbbar. Das Plasma erscheint stellenweise gekörnt
0,25-proz.	Wachstum normal	0
1,0 „	Kein Wachstum mehr, Kontrollen normal	Aehnlich dem Kulturpräparat
5,0 „		Sehr geringe Mengen form- und strukturloser Massen
12,5 „		
	b) Alte, fast nur Sporen enthaltende Kultur.	
0	—	Sporen gut färbbar
12,5-proz.	Normal. Wachstum	Dgl.
25,0 „ nach $^1/_2$ Std.	Dgl.	Sporen meist stark verändert, einzelne noch an den Polkörnchen erkennbar, sonst strukturlose Massen
25,0-proz. nach 24 Std.	Kein Wachstum mehr, Kontrollen normal	Nicht mehr Gram-färbbare, sporenähnliche Gebilde mit Spuren von Polkörnchen; Dimensionen auf etwa $^1/_3$ reduziert

3. Bacillus smegmatis.

Die Versuche wurden mit einer Laboratoriumskultur und einem frisch von Král bezogenen Stamm ausgeführt. Beide verhielten sich vollkommen gleich, die nachstehenden Resultate beziehen sich also auf beide Versuchsreihen. Als Färbungen wurden Ziehl- und Gram-Färbung nebeneinander angewandt; die letzteren waren durchweg deutlicher als die ersteren.

0	—	Gut färbbare, schwach granulierte Bacillen
0,5-proz.	Normal. Wachstum	Kein wesentlicher Unterschied gegen vorhergehende
1,0 „	Kein Wachstum mehr, weder nach 2-, noch nach 3maligem Waschen des Bodensatzes. Kontrolle normal	In der Ziehl-Färbung erscheinen die Bacillen, bis auf wenige gut erhaltene, stark angegriffen und stark granuliert, daneben nicht säurebeständige Massen. In der Gram-Färbung alle sehr fein granuliert und schwach gefärbt, aber in der Form erhalten
2,5 „	Dgl.	In beiden Färbungen nur noch einzelne intakte Bakterien, isolierte Granula und kaum mehr färbbare Massen von unbestimmter Form
5,0 „	„	Nur noch sehr vereinzelte, stark granulierte Stäbchen und isolierte Granula in formlosen, weder säure- noch Gram-beständigen Massen
12,5 „	„	Zweifelhafte Gebilde, welche mit Bestimmtheit weder als Bakterienreste, noch als Granula angesprochen werden können

4. Bacillus Moeller II.

0	—	Wenige gleichmäßig gefärbte Stäbchen, die meisten stark granuliert, Granula intensiv, Plasma schwach gefärbt
0,5-proz.	Kein Wachstum. Kontrolle normal	Die Bacitlen sind in Haufen zusammengeklebt, Umrisse unscharf, die Granula treten stärker hervor
1,0 „	Dgl.	Bacillen aufgequollen, aber noch deutlich, Granula nach Ziehl stark, nach Gram schwach gefärbt
2,5 „	„	Stäbchen nicht mehr zu unterscheiden; Haufenwerk verschieden intensiv gefärbter Granula
5,0 „	„	Weder Stäbchen, noch Granula mehr zu unterscheiden. An einigen Stellen intensiver gefärbte, punktierte Gerinnsel (verklebte Granula?)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Antiformin-konzentration	Kulsurversuche nach ½ Stunde A.-Einwirkung	Mikroskopische Präparate
	5. Bacillus Tobler IV (Butterbacillus).	
Die Versuche wurden, wie bei B. smegmatis, mit zwei Stämmen ausgeführt, welche ebenfalls ganz gleiche Resultate gaben; beide waren schwach säurebeständig, so daß die Ziehl-Färbung gewisse Schwierigkeiten bot.		
0	—	Bacillen alle stark granuliert, Granula intensiv gefärbt; Plasma mit Gram schwach, mit Ziehl kaum sichtbar
0,25-proz.	Kein Wachstum. Kontrolle normal	Schwach gefärbte, in höchst feine, oft an der Grenze der Sichtbarkeit stehende Körnchen aufgelöste Stäbchen; mit Ziehl zarte, gefärbte Membran. Sehr wenige Granula oder ganze Bacillen
0,5 „	Dgl.	Gram färbt besser als Ziehl, Stäbchen und isolierte Granula etwa in gleicher Zahl, Plasma schwach färbbar
1.0 „	„	Bacillen stark gequollen, Granula mit Gram gut, mit Ziehl kaum färbbar. Umrisse deutlich
2,5 „	„	Fast vollständige Lösung, formlose Massen mit Granulis; vereinzelte Stäbchen mit Granulis und farblosem Plasma
5,0 „	„	In formlosen Massen sehr vereinzelte, undeutlich stäbchenähnliche Gebilde
	6. Bacillus tuberculosis anguis (Blindschleichentuberkulose).	
0	—	Ziemlich stark granulierte Bacillen
1,0-proz.	Kein Wachstum. Kontrolle normal	Meist gut gefärbte Stäbchen ohne Granula, daneben wenige, sehr schwach gefärbte Individuen
5,0 „	Dgl.	Wie vorhergehende
25,0-proz. nach ½ Std.	„	Dgl.
Nach 24 Std.	„	Nur noch sehr wenige, stark granulierte Stäbchen
50,0-proz. nach 24 Std.	„	Keine Spur mehr von Bacillen
	7. Bacillus tuberculosis typus bovinus.	
Es wurden keine Kulturversuche angestellt, dagegen eine Drüse eines mit Bovinus infizierten Meerschweinchens mit Antiformin behandelt.		
	Drüsenpräparate.	
0	—	Granulierte und nicht granulierte Stäbchen
25,0-proz. nach ½ Std.	Wenige, gleichmäßig gefärbte Bacillen	Wie vorhergehende, die Granula scheinen etwas stärker hervorzutreten
Nach 2 Std.		Dgl.
Nach 4 Std.		Dgl.
50,0-proz. nach 3 Tagen		Vollkommen intakte Bacillen
Nach 6 Tagen		Dgl.

Hervorzuheben ist hier, daß bei längerer Antiforminbehandlung und selbst bei 50-proz. Lösung die Granula nicht mehr sichtbar sind, sondern ganz gleichmäßige Färbung eintritt. Bei den früher beschriebenen Arten war das Gegenteil der Fall; die Granula wurden deutlicher und der Bacillenleib verschwand. Eine Erklärung dieses Verhaltens fehlt. (Vielleicht wirkt das Antiformin hier als Beize ähnlich dem Anilinchlorhydrat?)

8. Bacillus tuberculosis typus humanus.

Es wurde einzig ein Tb enthaltendes Sputum untersucht, welches sehr gleichmäßig färbbare, wenig granulierte Bacillen zeigte.

25-proz. Antiformin nach 18 Tagen und 50-proz. Antiformin nach 4 Tagen ließ nicht die geringste Veränderung im Aussehen der Bacillen erkennen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zusammenfassung.

1. In den Kulturversuchen mit Staphylococcus, Mesentericus (außer Sporen), Smegma, Tobler IV, Müller II, Blindschleichentuberkulose wirkt schon 1-proz. Antiforminlösung vollständig entwicklungshemmend, bei einzelnen sogar schon viel schwächere Lösungen.

2. Die mikroskopische Untersuchung erlaubt, den verändernden Einfluß des Antiformins auf die Bakterien direkt sichtbar darzustellen in Form von Variationen der Färbbarkeit und des Aussehens des Bakterienleibes.

Das wichtigste Resultat der mikroskopischen Untersuchung jedoch ist die Möglichkeit, die sogenannten säurefesten Bacillen in zwei scharf voneinander getrennte Gruppen einteilen zu können:

A. Smegma, Moeller, Tobler, in 15-proz. Antiformin nach $^1/_2$-stündiger Einwirkung vollkommen löslich.

B. Tuberkulosegruppe (Humanus, Bovinus, Anguis).

a) Blindschleichentuberkulose wird von 25-proz. Antiformin nach 24 Stunden nicht vollständig, von 50-proz. Lösung nach 24 Stunden dagegen restlos aufgelöst.

b) Humanus und Bovinus aber werden selbst von 50-proz. Antiforminlösung nach 4-tägiger Einwirkung nicht wesentlich verändert. Blindschleichentuberkulose stellt also gewissermaßen einen Uebergangstypus zwischen Humanus und Bovinus einerseits und Smegma-Moeller-Tobler andererseits dar.

3. Selbst unter der Annahme, daß sehr verschieden widerstandsfähige Stämme existieren, bedürfen die Angaben Uhlenhuths u. a., soweit sie die Antiforminbeständigkeit der Smegma-Moeller-Tobler-Gruppe derjenigen der Tuberkulosegruppe gleichstellen, einer Revision. In der von den genannten Autoren aufgestellten allgemeinen Form ist die Gleichstellung der beiden Gruppen unrichtig.

4. Diese Feststellung ist praktisch von weitgehender Bedeutung dadurch, daß die Antiforminmethode erlaubt, echte Tb (Humanus, Bovinus, eventuell auch Blindschleichentuberkulose) von Smegma, Moeller, Tobler bei Untersuchung aller Sekrete und Exkrete (besonders Urin und Kot) mit Sicherheit auf mikroskopischem Wege zu unterscheiden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Notiz über die Desinfektionskraft der „Thigans"[1]).

Von Prof. Dr. **Walter Frei,**
Direktor des Veterinärpathologischen Instituts der Universität Zürich.

Thigan, ein neues Desinfektionsmittel, wird von der Firma Dr. Georg Henning, Chemische und pharmazeutische Fabrik, Berlin W. 35, Kurfürstenstr. 146/47, hergestellt, speziell zur Behandlung der Gonorrhöe. Ueber den Wert oder Unwert eines neuen desinfizierenden Präparates, das in die therapeutische Praxis eingeführt werden soll, entscheidet einerseits der bakteriologische Versuch im Reagensglas, andererseits die praktische Anwendung am lebenden Organismus. Bekanntlich stimmen die Ergebnisse solcher Versuche nicht immer überein, d. h. eine Substanz kann sehr wohl in vitro gute desinfizierende Eigenschaften aufweisen, ohne sich in der praktischen Anwendung als Desinfektionsmittel zu bewähren. Das ist zum großen Teil dem Umstand zuzuschreiben, daß das Medium, dem bei der Desinfektion eine hervorragende Bedeutung zukommt, bei der Anwendung des Mittels am Lebenden ein ganz anderes ist, als im Glasversuch, wo die Verhältnisse meist möglichst einfach gewählt werden[2]). Dazu kommt die Wirkung des Präparates auf die natürlichen Abwehrvorrichtungen des Organismus. Unsere Kenntnisse auf diesem Gebiet sind noch recht spärliche. Die Wirkung unserer Medikamente auf die Antikörperproduktion, auf die Leukocyten, auf die schützenden Deckepithelien bedarf noch eingehenden Studiums. Ein ideales Gonorrhöebehandlungsmittel müßte neben hervorragendem, bakterizidem Vermögen die Eigenschaft haben, die natürlichen Abwehrvorrichtungen des Organismus zu unterstützen bzw. zu stimulieren. Insofern bei der lokalen Tripperbehandlung ein Anteil des Medikamentes resorbiert wird und in den Kreislauf gelangt, greift diese Behandlung gewissermaßen bereits auf das Gebiet der Chemotherapie über.

Klinische Untersuchungen über Thigan sind ausgeführt worden von Stümpke[3]). Die Resultate waren gute. Es interessierte nun, auch das bakterizide Vermögen des Präparates im Glase kennen zu lernen. — Thigan ist der geschützte Name einer seit kurzer Zeit dem Handel übergebenen 2-proz. Thigenolsilberlösung. Das Thigenolsilber wiederum ist eine Verbindung von Silber mit dem in der Dermatologie und Gynäkologie bewährten Thigenol „Roche". Es stellt nämlich das Silbersalz der Sulfosäure eines synthetisch dargestellten Sulfoöles dar, während Thigenol das Natriumsalz ist (nach Angaben der Firma). Thigan stellt

1) Die Versuche wurden in meinem Institut unter Mitarbeit von J. Mittelholzer ausgeführt, März bis Juli 1914. Unser Versuchsplan war, die Desinfektionskraft des Thigans unter verschiedenen Bedingungen gegenüber einer Reihe von Bakterien, besonders gegenüber Gonokokken, zu erproben, wobei bereits bekannte Desinfektionsmittel, insbesondere ebenfalls zur Gonorrhöebehandlung benutzte Silberpräparate, als Vergleichsdesinfizienzien herangezogen werden sollten. Die Arbeiten wurden durch den Kriegsausbruch unterbrochen. Da es uns in absehbarer Zeit nicht möglich sein wird, die Versuche wieder aufzunehmen, habe ich mir erlaubt, hier die wichtigsten, bisher erlangten Resultate mitzuteilen.

2) Vgl. meine im Druck befindliche Arbeit „Die Rolle des Mediums bei der Desinfektion" in der Prag. med. Wochenschr., ferner Walter Frei u. Ch. Margadant. Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haust. Bd. 15. 1914. p. 273 u. 350 und Walter Frei ebenda. Bd. 15. 1914. p. 407.

3) München. med. Wochenschr. Bd. 29. 1914. p. 1627.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

eine dunkelbraue, in ihrer Konsistenz wasserähnliche, sich leicht mit Wasser mischende, geruchlose Flüssigkeit dar. Der Silbergehalt ist 1 Prom., 1 ccm Thigan enthält also 1 mg Ag.

Die Methode der Desinfektionsprüfung des in den Handel kommenden Thigans war die übliche einfache. In jedes Röhrchen einer Verdünnungsserie des Desinfektionsmittels wurde eine gleiche kleine Menge der Bacillenemulsion (hergestellt durch Aufschwemmen einer 24-stündigen Agarkultur in destilliertem Wasser, filtriert), meist 0,2 ccm, bei Verwendung von Eiter je 0,5 ccm einer gut gemischten, wässerigen Eiteraufschwemmung, gebracht und nach verschiedenen Zeiten je 2 Oesen auf Agar resp. Bouillon abgeimpft. Die geimpften Röhrchen wurden 5 Tage lang auf Wachstum beobachtet. Durch Kontrollen wurde festgestellt einerseits, ob die verwendete Kultur lebensfähig, andererseits ob die mit der Oese übertragene kleine Menge des Desinfiziens nicht etwa allein imstande war, das Wachstum der ausgesäten Keime zu hemmen. Dies war nie der Fall, während alle Kulturen lebensfähig sich erwiesen. Die Versuche mit Thigan und dem Vergleichsdesinfiziens wurden immer gleichzeitig und unter ganz genau denselben Bedingungen angestellt. In den Tabellen sind die Ergebnisse, die miteinander verglichen werden können, zusammengestellt.

Tabelle I.

Thigan und Lysol. Coli-Kultur.
Abimpfung auf Bouillon.

	15′	30′	45′	60′	90′	2ʰ	3ʰ	4ʰ	5ʰ
Thigan: 0,1 Proz.[1])	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 0,5 „	+	+	+	+	+	+	—	—	—
„ 1,0 „	+	+	+	+	—	—	—	—	—
„ 2,0 „	+	+	+	—	—	—	—	—	—
„ 3,0 „	+	+	+	+	—	—	—	—	—
„ 4,0 „	+	+	—	—	—	—	—	—	—
„ 5,0 „	+	+	—	—	—	—	—	—	—
Lysol: 0,1 „	+	+	+	+	+	+	+	+	—
„ 0,5 „	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 1,0 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 2,0 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 3,0 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle II.

Thigan und Lysol. Paratyphus B-Kultur.
Abimpfung auf Bouillon.

	15′	30′	45′	60′	90′	2ʰ	3ʰ	4ʰ	5ʰ
Thigan: 0,1 Proz.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 0,5 „	+	+	+	+	+	+	—	—	—
„ 1,0 „	+	+	+	+	+	—	—	—	—
„ 2,0 „	+	+	+	+	—	—	—	—	—
„ 3,0 „	+	+	+	—	—	—	—	—	—
„ 4,0 „	+	+	+	—	—	—	—	—	—
„ 5,0 „	+	+	—	—	—	—	—	—	—
Lysol: 0,1 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 0,5 „	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 1,0 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 2,0 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—

1) Die Prozentzahlen bei Thigan in den Tabellen I—V beziehen sich auf Verdünnungen einer Stammlösung, die 5 Proz. Ag enthält. Der Ag-Gehalt der Verdünnungen ist also 20mal geringer, als die Prozentzahlen der Tabellen angeben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.
Thigan und Lysol. Bac. pyocyaneus-Kultur.
Abimpfung auf Bouillon.

	15′	30′	45′	60′	90′	2ʰ	3ʰ	5ʰ	7ʰ
Thigan: 0,1 Proz.	+	+	+	+	+	+	—	—	—
„ 0,2 „	+	+	+	+	+	—	—	—	—
„ 0,5 „	+	+	+	+	+	—	—	—	—
„ 1,0 „	+	+	+	—	—	—	—	—	—
„ 2,0 „	+	+	+	—	—	—	—	—	—
Lysol: 0,1 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 0,5 „	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 1,0 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle IV.
Thigan und Lysol. Staphylokokkeneiter.
Abimpfung auf Bouillon.

	15′	30′	45′	60′	90′	2ʰ	3ʰ	5ʰ	7½ʰ
Thigan: 0,1 Proz.	+	+	+	+	+	+	—	—	—
„ 0,2 „	+	+	+	+	+	+	—	—	—
„ 0,5 „	+	+	+	+	+	+	—	—	—
„ 1,0 „	+	+	+	+	+	+	—	—	—
„ 2,0 „	+	+	+	+	+	—	—	—	—
Lysol: 0,1 „	+	+	+	+	+	+	+	—	—
„ 0,5 „	+	+	+	+	—	—	—	—	—
„ 1,0 „	+	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle V.
Thigan und Lysol. Milch mit Streptokokken und Staphylokokken (je 0,2 ccm).
Abimpfung auf Bouillon.

	15′	30′	45′	60′	90′	2ʰ	3ʰ	4ʰ	5ʰ
Thigan: 0,1 Proz.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 0,2 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 0,5 „	+	+	+	+	+	—	—	—	—
„ 1,0 „	+	+	+	+	—	—	—	—	—
„ 2,0 „	+	+	+	—	—	—	—	—	—
Lysol: 0,1 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 0,2 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 0,5 „	+	+	+	—	+	+	+	+	—
„ 1,0 „	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 2,0 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle VI.
Thigan und Protargol. Pyocyaneus-Kultur.
Abimpfung auf Bouillon.

	15′	30′	45′	60′	90′	2½ʰ	3½ʰ	5ʰ	8ʰ
Thigan: 0,1 Proz.[1])	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 0,05 „	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 0,01 „	+	+	+	+	+	—	—	—	—
Protargol: 0,1 „ [1])	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 0,05 „	+	+	—	—	—	—	—	—	—
„ 0,01 „	+	+	+	+	—	—	—	—	—

1) Diese Prozentzahlen bezeichnen den Silbergehalt der Lösungen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VII.
Thigan und Protargol. Staphylokokkenkultur.
Abimpfung auf Agar.

	15′	30′	60′	2ʰ	3ʰ	4ʰ	6ʰ
Thigan: 1,0 Proz.[1])	—	—	—	—	—	—	—
„ 0,1 „	+	+	+	—	—	—	—
„ 0,05 „	+	+	+	—	—	—	—
Protargol: 1,0 „ [1])	+	—	—	—	—	—	—
„ 0,1 „	+	—	—	—	—	—	—
„ 0,05 „	+	—	—	—	—	—	—

+ bedeutet Wachstum, — kein Wachstum = Abtötung.

Verglichen mit dem Lysol, das ca. 50 Proz. desinfektorisch wirksame Kresole enthält, kommt also dem Thigan ein bemerkenswertes bakterizides Vermögen zu. Gegenüber den Eitererregern, Staphylokokken und Pyocyaneus ist es Lösungen des Protargols mit gleichem Silbergehalt ebenbürtig. Verschiedene andere Versuche mit denselben Bakterien und Thigan und Lysol bzw. Thigan und Protargol lieferten ganz ähnliche Resultate.

Da Thigan speziell als Antigonorrhoicum Anwendung finden soll, mußten Desinfektionsversuche mit Gonokokken, besser noch mit Gonokokkeneiter, der den natürlichen Bedingungen am nächsten kommt, von ganz besonderem Interesse sein. Leider war es uns nur möglich, den einen, in Tabelle VIII wiedergegebenen Versuch auszuführen.

Tabelle VIII.
Thigan und Protargol. Gonokokkeneiter.
Abimpfung auf Ascitesagar.

	15′	30′	60′	2ʰ	3ʰ	5ʰ
Thigan: 0,01 Proz.[1])	+	—	—	—	—	—
„ 0,1 „	—	—	—	—	—	—
Protargol: 0,01 „ [1])	+	—	—	—	—	—
„ 0,1 „	+	—	—	—	—	—

Hiernach scheint das Thigan auch gegenüber Gonokokken dem Protargol gleich zu stehen.

1) Diese Prozentzahlen bezeichnen den Silbergehalt der Lösungen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Theorie der Färbung nach Gram.

Kolloidchemisch-optische Gesichtspunkte.

[Biologisch-hygienisches Institut, Escola Polytechnica São Paulo (Brasilien).]

Von Prof. Dr. **Rob. Hottinger.**

Zusammenfassung.

Die nachfolgend zu erörternde Theorie der Gramschen Färbung ist auf kolloidchemisch-optischer Grundlage aufgebaut. Die Definition derselben ist schon im Namen ausgedrückt und heißt mit anderen Worten, daß das Zustandekommen oder Ausbleiben der Färbung nach Gram auf Erscheinungen beruht, die sich in einem dispersen Systeme abspielen, und daß der jeweilige Zustand der dispersen Phase, welche mit basischen Farben allein als färberisch darstellbar angenommen wird, entscheidend ist darüber, ob sich die Micellen optisch nachweisen lassen, oder ob dieselben jenseits des Auflösungsvermögens des angewandten optischen Hilfsmittels liegen.

Von diesem näher zu erörternden Gesichtspunkte ausgehend, werden die verschiedenen Erscheinungen, die sich bei der Gramschen Methode zeigen, nicht nur verständlich, sondern es können auch die Bedingungen überblickt werden, welche für den positiven oder negativen Ausfall der Färbung maßgebend sind. Die Theorie stützt sich auf anerkannte Tatsachen; sie ist in ihren wesentlichen Punkten experimentell durchgeprüft.

Im vorliegenden Falle werden die angeführten Prinzipien auf die Gramsche Färbung bezogen; schon früher wurden dieselben mit der histologischen Darstellbarkeit des Fettes bei Leberverfettung in Zusammenhang gebracht („Ueber die Leberverfettung etc.“ Inaug.-Diss. 1904). Weiterhin soll versucht werden, auf diesen kolloidchemisch-optischen Grundlagen die sich widersprechenden Ansichten des Zellforschers gegenüber dem Vererbungstheoretiker möglichst zu heben, namentlich in bezug auf die Theorieen der Vererbung erworbener Eigenschaften, denen ja erfreulicherweise neuerdings auch einige Bakteriologen besonderes Interesse widmen.

Aus Obigem ist also ersichtlich, daß die zu besprechende Theorie das Problem der Gramschen Färbung nicht vom Standpunkte des Farbenchemikers, sondern von biologischen Gesichtspunkten aus behandelt.

Eine allgemein anerkannte Theorie der Gramschen Färbung besteht noch nicht. Von einer Theorie muß verlangt werden, daß sie über alle normalen und abnormen Verhältnisse klare Auskunft gibt und namentlich die Bedingungen der Ausnahmen und Abweichungen an der Hand von Tatsachen festlegt und verständlich macht. Eine Theorie soll nicht nur die Vorkommnisse erklären, sondern auch dem Experimente einen festen Boden schaffen, auf welchem gebaut werden kann. Man könnte einwenden, daß die Bakteriologie einer solchen Theorie gar nicht bedürfe, denn praktisch ist diese Methode so gut eingeführt, daß sie immer angewendet werden wird, auch dann, wenn es sich herausstellen sollte, daß das Verhalten der Bakterien gegenüber dieser Färbung nicht spezifisch sein kann. Zwar ist längst bekannt, daß die gleiche Art sich unter ver-

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schiedenen Umständen gegenüber der Gram-Färbung verschieden verhalten kann. Der Wert der Theorie liegt in diesem Falle jedoch in neuen Fragestellungen für weitere Versuche. So wäre z. B. festzustellen, ob das oft unsichere Verhalten nicht durch gewisse Modifikationen in der Technik gehoben werden könnte. Solange wir nicht alle Bedingungen für das Zustandekommen der Färbung und Entfärbung überblicken, ist an eine sichere Handhabung der Methode nicht zu denken. Es werden Modifikationen angegeben werden, die sich auf tastende Versuche stützen und vielleicht gar dazu beitragen, die Unstimmigkeit der Methode zu vermehren. Jede an das Rezept gebundene Laboratoriumsmethode ist unangenehm zu handhaben, denn das Gelingen und Nichtgelingen mit all den Zwischenstufen können nicht klar überblickt werden.

Nachfolgend soll, wie bemerkt wurde, versucht werden, die Gramsche Färbung vom kolloidchemisch-optischen Standpunkte aus zu begründen und aufzuklären. Die gegenwärtigen Theorieen stehen sich zum Teil schroff gegenüber. Fischer legt den Hauptwert auf die Größe der sich färbenden Granula, Kruse zieht die verschiedene Dichtigkeit des Plasmas heran, Brudny sowie Eisenberg finden engste Beziehungen zwischen der Permeabilität der Bakterien zur Gram-Festigkeit, während Kruse „im Gegenteil auf eine größere Undurchlässigkeit der gramfesten Bakterien schließt". Inwiefern diese Theorieen den Tatsachen gerecht werden, soll weiter unten kurz erörtert werden. Es ist in erster Linie die übliche Tecknik der Färbung und Differenzierung zu beleuchten, soweit für die Theorie wichtige Punkte hervorgehoben werden müssen.

Technik der Gramschen Färbung.

Das Fixieren des Bakterienpräparates

ist natürlich gleichbedeutend mit Abtöten der Bakterien. Wenn die nachfolgenden Resultate, grampositiv oder -negativ, mit der verschiedenen Permeabilität der Bakterienmembram oder des Ektoplasmas in Verbindung gebracht werden, so ist dagegen prinzipiell nichts einzuwenden. Hingegen muß bemerkt werden, daß die osmotischen Verhältnisse der lebenden Zelle sich durch das Fixieren doch sehr verschieben dürften. Die grampositiven, lebenden Keime sind nicht plasmolysierbar, sie sind permeabel für Salzlösungen, im Gegensatz zu den gramnegativen. Im fixierten Präparate hingegen sind beide Gruppen leicht permeabel für die Farbe, permeabel (ich nehme an, fast ebenso leicht wie für die Farbe) für die Beize und für den Alkohol. Die Permeabilität der lebenden Zelle ist ein außerordentlich fein abgestimmter Mechanismus, wie namentlich die neueren Untersuchungen an Blutkörperchen gezeigt haben. Auch hier fanden sich artspezifische Differenzen bezüglich der Permeabilität verschiedenen Ionen und Kohlehydraten gegenüber. In bezug auf Färbung aber verhalten sich die fixierten Zellen osmotisch alle gleich; sie sind leicht permeabel für die Farben. Daß auch die impermeablen, gramnegativen Bakterien für die Jodbeize permeabel sind, führt Brudny selbst an (p. 76); auf diesen Punkt werde ich weiter unten zurückkommen. Es soll nur darauf hingewiesen werden, daß die mehr oder weniger große Uebereinstimmung der osmotischen Verhältnisse der lebenden Zelle mit der Färbbarkeit nach Gram bei der fixierten Zelle nicht dazu berechtigt, die Wirkung, also z. B. Plasmolyse und Entfärbung nach Gram, auf die gleiche Ursache (Membranfunktion) zurückzuführen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das Fixieren geschieht, unter Anwendung von Hitze, meistens, indem das Präparat durch die Bunsen-Flamme gezogen wird.

Die Färbung mit basischen Anilinfarben

vollzieht sich sehr leicht, und zwar machen in bezug auf Intensität, Schnelligkeit der Färbung und Ausdehnung der Färbung sich klare Unterschiede bemerkbar. Am wenigsten färben sich die gramnegativen Bakterien an; in normalen Zellen erscheint der ganze Inhalt gleichmäßig gefärbt. Intensiver färben sich die grampositiven; bei diesen verhalten sich Saccharomyceten insofern anders, als sich Plasma und Kern, namentlich in gewissen Entwickelungsstadien, leicht darstellen lassen.

Werden die gefärbten Präparate kurz mit Alkohol gewaschen, so sind die gramnegativen Zellen entfärbt, während die gramfesten eine ziemlich lange Behandlung ertragen, bevor die Entfärbung vollständig ist. Es scheint mir, daß sich so eine Alkoholdauer im Sinne von Neides Gram-Dauer aufstellen lassen würde, die sich mit dieser letzteren weitgehend decken müßte.

Bei der Behandlung des gefärbten Präparates mit Jod-Jodkali etc. wird die Farbe in der Zelle als dunkel-schwarzblauer Niederschlag gefällt. Daß auch gramnegative Zellen das Jod aufnehmen, beweisen die Färbungen der noch nicht differenzierten Präparate; sie zeigen meist die Nuance des Farbstoffniederschlages (Jodpararosanilin). Dieser Niederschlag ist bedeutend schwerer löslich als die reine Farbe, und zwar sowohl in Wasser als auch in Alkohol. Diese alkoholische Lösung färbt außerordentlich schlecht oder vielleicht, wenn rein, gar nicht. Immerhin gelingt es nach tagelanger Einwirkung, eine schwache Färbung zu erzielen; bei kurzer Einwirkung, etwa $^1/_2$ Stunde, ist die Färbung nur bei gut gewählter Beleuchtung nachweisbar.

Sehr viel schwerer löslich aber ist das Jodpararosanilin in jodhaltigem Alkohol.

Das Differenzieren des Präparates

geschieht meist mit 80—90-proz. Alkohol. Dadurch wird die Färbung rückgängig gemacht, und zwar besteht der Unterschied zwischen grampositiv und -negativ nur in der Schnelligkeit der Entfärbung (Neides Gram-Dauer). Die gramfesten Bakterien entfärben sich in rund 1 Stunde, die typisch entfärbbaren in etwa 2 Minuten (vgl. Neide). Wird stark mit Jod-Jodkali behandelt, so dauert die Entfärbung länger.

Wird mit jodhaltigem Alkohol differenziert, so stellen sich die Verhältnisse anders; die Resultate decken sich nicht mehr mit der Originalmethode Gram. Es wird in diesem Falle nur noch das freie Jodpararosanilin ausgewaschen, während die in der gramfesten Substanz niedergeschlagene Farbe sich viel schwerer löst. Die Konzentration der Jodtinktur ist für die Art dieser Entfärbung ausschlaggebend.

So weit, was die benannte Technik anbelangt. Es ist nun in erster Linie die Frage zu erörtern, ob die Bedingungen des Gram-Verhaltens in einem bestimmten chemischen oder physikalischen Charakter der Zelle gegeben seien, oder ob rein osmotische Verhältnisse, also Funktionen der Zellmembran resp. des Ektoplasmas, ausschlaggebend sind

Die gramfesten Substanzen.

Bezüglich des chemischen Charakters derjenigen Substanz, die bei der Behandlung nach Gram gefärbt bleibt, bestehen einige Unklarheiten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es wird einerseits angenommen, es sei das gesamte Plasma an der Gram-Festigkeit beteiligt, denn die basischen Anilinfarben färben alle Bakterien mehr oder weniger leicht. Die Jodbeize[1]) bringt in den gramnegativen wie -positiven Substanzen dieselbe, meist gleichmäßig intensive Färbung hervor. Wird die Jodierung bei höherer Temperatur, bei größerer Konzentration der Lugolschen Lösung oder durch längere Zeit angewendet, so werden auch die gramnegativen Zellen positiv, d. h. sie widerstehen der Entfärbung so lange, daß sie zu der Klasse Gramfest zu zählen sind. Verwendet man zur Färbung Saccharomyceten in verschiedenen Entwickelungsstadien, so läßt sich leicht feststellen, daß sich das eigentliche Plasma kaum färbt, während der Kern sehr intensiv grampositiv ist. Gewisse, wahrscheinlich abgestorbene Zellen zeigen eine stärkere Neigung, gramnegativ zu werden.

Es ist sehr naheliegend, daß bestimmte Substanzen in der Bakterienzelle vorhanden sind, welche sich mit basischen Farben stark färben und große Widerstandsfähigkeit gegenüber dem Differenzierungsmittel besitzen. M. Guerbet, A. Meyer und G. Schäffer machen auf die Färbbarkeit von Fettsäuren nach Gram etc. aufmerksam. Wenn diese Angaben auch zutreffen, so ist doch daran zu erinnern, daß Nikitin durch Extraktion der Bakterien mit Alkoholäther die Gramfestigkeit nicht beeinflussen konnte. In diesem Falle sind die Fettsäuren sowie lipoide Substanzen entfernt, ohne daß die Zellen im Gram-Verhalten Unterschiede zeigen würden, woraus die geringe Wichtigkeit dieser Körper bezüglich der Färbung wohl erwiesen ist.

Daß Fett, Glykogen und Protoplasmaeinschlüsse mit der Gram-Methode nicht darstellbar sind, hat Grimme gezeigt.

Ein Gehalt an Cellulose konnte die Färbung beeinflussen; das verschiedene Verhalten junger und alter Kulturen, die Resultate der künstlichen Verdauung, der Autolyse und andere Vorkommnisse sind aber mit der Annahme nicht vereinbar, daß Cellulose ein maßgebender Faktor bei der Gram-Methode sei.

Brudny glaubt, daß nur das Cytoplasma an dem Zustandekommen der Gramschen Färbung beteiligt sei (p. 65). Wenn diese Bezeichnung im üblichen Sinne als Gegensatz zum Kernplasma gebraucht ist, so werden folgende Angaben beweisen, daß das Cytoplasma am Gramverhalten nur einen sehr geringen Anteil haben kann.

Die basischen Anilinfarben sind Kernfarbstoffe; sie färben die chromatische Substanz fast ausschließlich und sehr intensiv. Die histologische Kernfärbung unterscheidet sich von der Gramschen Färbung nur durch die Jodierung. Durch dieselbe wird der Farbton vertieft und die Färbung etwas echter, indem das Gleichgewicht, Löslichkeit im Lösungsmittel (Alkohol bei der Differenzierung und Löslichkeit in der gefärbten Substanz) sich zugunsten der letzteren verschiebt. Die Entfärbung tritt bei jodierten Zellen meistens weniger leicht ein und der zurückbleibende Farbton ist leichter zu beurteilen.

A. Feeser empfiehlt Jodhämatoxylin zur Bakterienfärbung, das, entgegen der herrschenden Ansicht, ebenso gut zu gebrauchen ist wie Anilinfarben. Damit hat dieser altbekannte, sehr elektive Kernfarbstoff auch bei Bakterien Würdigung gefunden. Daß die grampositive Substanz Kernsubstanz sei, hat dadurch eine weitere Stütze erhalten.

Ob mit Jod behandelt wird oder nicht, die gefärbten Teile der Zellen sind dieselben, eine Umstimmung findet nicht statt. Es ist also das

1) Um eine Beizewirkung kann es sich bei dieser Methode natürlich nicht handeln, wie aus der ganzen Prozedur der Färbung und Entfärbung hervorgeht.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Chromatin des Histologen, das gefärbt bleibt. Diese chromatische Substanz dürfte aber größtenteils aus Nukleoproteiden bestehen und sich somit scharf von den anderen Zelleiweißstoffen unterscheiden. Man könnte annehmen, daß gelegentlich Stoffe im Plasma, etwa Cellulose, Fettsäuren etc., sich ebenso verhalten könnten. Tatsächlich werden von denselben die Farben sehr intensiv zurückgehalten. Werden aber die verschiedensten Arten von Bakterien, von den gramnegativen zu den Sporenbildnern und den kernhaltigen Protisten, nach Gram gefärbt, so ist leicht ersichtlich, daß weder der Cellulose noch den Fettsäuren eine ausschlaggebende Rolle beigemessen werden darf. Gelegentliche Mitbeteiligung an der Färbung kann natürlich nicht ausgeschlossen werden.

Bei Verdauungsversuchen sowie mikrochemisch verhält sich die gramfeste Bakterienzelle wie Kernplasma, nicht aber wie Cytoplasma.

In den chemisch untersuchten Bakterien ist einwandfrei durch Purinbasennachweis der Gehalt an Nukleoproteiden festgestellt. Ueber die quantitativen Verhältnisse bei grampositiven und -negativen Arten liegen zwar keine genauen Angaben vor, dies ist aber, wie wir sehen werden, auch nicht nötig, um die Wichtigkeit dieses Körpers bei der Färbung zu würdigen.

Als gramfeste Substanz betrachte ich die Nukleoproteide der Bakterienzelle und die bei der Fixierung gebildeten Nukleine, wobei das Protoplasma sich in der Färbung nicht beteiligt. Für diese Ansicht werden unten weitere Belege gegeben werden. Bevor des näheren auf die Darstellbarkeit des Nukleoproteides (Fettsäure, Cellulose und andere Zelleinschlüsse kommen kaum in Betracht) eingetreten wird, sollen die herrschenden Ansichten über die Gram-Methode kurz erörtert werden.

Die Plasmadichte

ist nach Kruse für das Verhalten der Bakterien bei der Gram-Färbung bestimmend. Wenn dem so wäre, müßte man erwarten, daß gramnegative Bakterien, die kurz in Wasser gewaschen und im Vakuum bei ca. 40° scharf getrocknet wurden, unter Verdichtung des Plasmas grampositiv würden. Bei rascher Trocknung könnte die Fixierung eine sehr feine, schwammige Struktur bedingen, die leicht entfärbt wird. Ferner ist bei plasmolysierten Bakterien eine weitgehende Verdichtung des Plasmas zu beobachten, ohne daß sich eine Aenderung im Gram-Verhalten bemerkbar macht (vgl. Fischer, Vorlesungen über Bakterien, Bd. 3, Plasmoptyse der Choleravibrionen, Fig. b).

Ferner ist daran zu erinnern, daß gelegentlich gramnegative Keime grampositiv werden können; noch viel öfter oder fast konstant entfärben sich bei einigen Arten die sonst gramfesten Bakterien, z. B. bei älteren Kulturen. Da die Größenverhältnisse der Zelle sich nicht merklich verschieben, müßte man annehmen, daß ein Teil des Plasmas ausgetreten sei oder im ersten Falle das Plasma sich verdichtet hätte. Ein solcher Nachweis entzieht sich aber vorläufig der Feststellung. Auch die chemische Analyse wird sehr schwer den Nachweis eines mehr oder weniger dichten Plasmas führen können, da der normale Wassergehalt wegen des an der Oberfläche absorbierten Wassers nicht scharf zu bestimmen ist. Dies gilt besonders bei Analysen, die von verschiedenen Autoren stammen. Das Resultat der Trockensubstanzbestimmung hängt ab von der mehr oder weniger lufttrockenen Ursubstanz, sowie von der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Art des Trocknens (Vakuum 100°, 110° oder gar 120° bei Luftzutritt). Auch wird die gesamte Trockensubstanz nicht zur Beurteilung des Gram-Verhaltens herangezogen werden dürfen.

Des weiteren müßte angenommen werden, daß durch starke Behandlung mit Jod sich das Plasma derart verdichtet, daß die Zelle nunmehr grampositiv wird. Bei folgendem vollständigen Entfärben und Wiederholung der Färbung, unter Einhaltung der normalen Beizzeit, müßte die Zelle gramfest bleiben, da doch nicht angenommen werden darf, daß durch die Alkoholbehandlung das Plasma wieder weniger dicht werde.

Die Resultate von H. Kronberger, erhalten mit sorgfältig geleiteter Färbung und Nachfärbung (Substitution), wären nach der Theorie der Plasmadichte so zu deuten, daß sich bei ein und derselben Art im Verlaufe von Stunden die Dichte (molekulare Konzentrationen der Zelle?) in weiten Grenzen ändert, wie dies zwischen grampositiven und -negativen Arten angenommen wird. In jungen Kulturen von gramfesten Kokken weist Kronberger entfärbte resp. mit Eosin nachgefärbte Keime nach.

Auf diese Ergebnisse soll unten zurückgekommen werden.

Die Versuche von Kantorowicz, wonach eine Emulsion von gramnegativen Bakterien sich unter der Trypsinwirkung in kurzer Zeit aufhellt und klar wird, während dies bei grampositiven nicht der Fall ist, lassen sich kaum mit einem mehr oder weniger dichten Plasma vereinigen. Die grampositiven Keime dürfen immerhin längere Zeit brauchen bis zur Auflösung; aber diese müßte eintreten. Die größere Dichte würde das Eindringen des Fermentes etwa so vermindern, wie es bei Verdauung von getrocknetem, im Gegensatz zu frischem Fibrin der Fall ist.

Unter diesen Bedingungen, maximale alkalische Reaktion des Trypsin-Verdauungsgemisches, kommt es auch bei grampositiven zu einem Auflösen der Zellen (vgl. H. de Waele), das aber wohl im Reagensglas durch leichtes Ansäuern mit Mineralsäure wieder rückgängig gemacht werden kann (Trübung). Gewöhnlich wird sich bei gramfesten Keimen ein unverdauter Rückstand bilden, der entweder in Suspension bleibt oder sich als Niederschlag absetzt (sehr leicht bei Saccharomyces).

Wird Eiweiß auf dem Objektträger ausgestrichen und koaguliert, so entstehen verschieden dicke Schichten, die von der Art des Auftragens des Materials abhängen. Beim Trocknen und Fixieren wird die Schicht glashart und denaturiert, in Wasser unlöslich. Wird nun nach Gram gefärbt, so erhält man allerdings eine sehr ungleiche Entfärbung, je nach der Dicke der Schicht; aber die Entfärbung tritt bei ziemlich dicker Schicht leicht ein, auch wenn die Dicke diejenige eines gramfesten Bakteriums weit übersteigt.

Aus obigen Gründen scheint es nicht zwingend, der größeren Dichtigkeit des Plasmas der Bakterien eine besondere Rolle beim Verhalten zu der Gram-Methode zuzuschreiben. Wenn ich oben die Nukleoproteide der Bakterien als fast ausschließliche gramfeste Substanz ansprach, so geschah dies einesteils aus Analogieschlüssen aus der Histologie im Vergleiche mit den biochemischen Befunden, von denen namentlich die von Galeotti (p. 62) hervorzuheben sind, wonach die basischen Farbstoffe des Rosanilins eine große Affinität zu den Nukleoproteiden besitzen. Durch Alkohol wird denselben die Farbe entzogen.

Sodann sind die Nukleine von Galeotti auch bei den Bakterien sicher nachgewiesen. Dichteunterschiede im Sinne von Kruse könnten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

also nur diese Körper betreffen. Dieser Punkt wird noch näher zu beleuchten sein.

Die rein physikalische Theorie der Gram-Färbung

von Alfred Fischer (Fixierung, Färbung etc. p. 116) stützt sich auf die verschiedene Größe der Granula, die sich mehr oder weniger leicht entfärben. Untersucht wurden Deuteroalbumoseniederschläge. In Fig. 27 der Tafel sind Granula von der Größe, d. h. Durchmesser von 1 bis etwa 6 μ abgebildet, die nach Gram behandelt wurden. Die kleineren, bis etwa 1,6 μ, sind entfärbt, während die größeren zentral gefärbt bleiben. Bei der Differenzierung mit Alkohol hat sich die dem Differenzierungsmittel näher liegende Randsubstanz schneller entfärbt und ist die Entfärbung unterbrochen worden, nachdem dieselbe etwa 1,6 μ tief gewirkt hatte. Es wären also alle Granula entfärbt worden bis auf einen Durchmesser von etwa 3,2 μ.

Die Gramsche Entfärbung gibt aber bei Bakterien ganz andere Bilder als bei Deuteroalbumosefällungen. In erster Linie ist zu betonen, daß Mikrokokken sehr hartnäckig grampositiv sein können, auch wenn sie die Größe von 3 μ im Durchmesser nicht erreichen. Daß in einer Mischung von grampositiven und -negativen Keimen der gleichen Größe eine sehr schöne Differenzierung erhalten werden kann, macht ja gerade die Methode so wichtig. In diesem Falle spielen sicher nicht die Größenverhältnisse eine Rolle, sondern andere spezifische Eigenschaften.

Es gelang mir nie bei Anwendung der Gramschen Methode auf sehr verschieden große Keime, eine Differenzierung zu erhalten, wie sie nach A. Fischer in den Deuteroalbumoseniederschlägen auftritt. Zu einer Spiegelbildung kommt es sicher nicht. Die Entfärbung tritt nicht vom Rande her, immer tiefer dringend, ein, also bei ungenügender Entfärbung ein noch gefärbtes Centrum übrig lassend (Spiegeldifferenzierung), sondern die Farbe wird zusehends schwächer und verschwindet schließlich ganz. Dies kann leicht beim Differenzieren mit sehr verdünntem Alkohol verfolgt werden, namentlich wenn große Bakterien, vielleicht Saccharomyceten, untersucht werden. Sehr klar geht dies auch aus den Figuren in Neides Arbeit hervor. Neide erwähnt mit keinem Worte solche Spiegelbilder, die ihm sicher aufgefallen wären, da ja gerade die Entfärbung bei der Gram-Methode besonders studiert wurde. Prinzipiell stimme ich der Ansicht Fischers über die physikalische Wirkungsweise des Differenzierungsmittels bei, jedoch darf die Bakterienzelle nicht mit einem Albumosekörnchen verglichen werden. Die Bakterien verhalten sich fast in jeder Beziehung anders, wie z. B. Membranbildung, osmotische Eigenschaften, Aenderungen in der Gram-Festigkeit, Fehlen von Spiegelbildern beim Differenzieren, komplizierteste chemische Zusammensetzung etc. Die Spiegelfärbung scheint geradezu darauf hinzudeuten, daß das gefärbte Material einheitlich ist im Sinne der Färbefähigkeit und Farbechtheit.

Wenn dem also bei Bakterien so wäre, wenn sich die Bakterienzelle in allen Teilen der Farbe gegenüber gleichförmig verhalten würde, wären allerdings Spiegelbilder bei der Differenzierung zu erwarten, wie sie A. Fischer bei Albumoseniederschlägen erhielt. Daß dem nicht so ist, zeigen die Figuren der Tafel von Kronberger. Fig. 4 scheint eine Andeutung von Spiegelfärbung zu zeigen, indem viele Kokken ein „dunkelblaues Zentrum“ zeigen. Leider ist es aber meist kein Zentrum,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sondern die Körnchen liegen fast ohne Ausnahme exzentrisch, während die Spiegelbilder von A. Fischer tatsächlich zentrale, anders gefärbte Körnchen aufweisen. Kronberger bildet auch sehr kleine Kokken mit Körnchen ab, während bei Fischer bis auf eine bestimmte Größe (vgl. oben) alle Granula entfärbt sind. In Fig. 3 und 5 (Kronberger) sind mischfarbene Kokken abgebildet, was für meine Betrachtungsweise der Gram-Methode sowie der Zelle überhaupt wichtig ist. (Was die Technik des Autors anbelangt, siehe p. 19.)

Die Permeabilität der Bakterien

wurde von Brudny sowie von Eisenberg zur Erklärung des Verhaltens der Bakterienarten gegen Gram herangezogen. Es wurde schon oben darauf hingewiesen, daß die Permeabilität bei lebenden Zellen und bei fixierten nicht dieselbe zu sein braucht. Die Uebereinstimmung, daß plasmolysierbare Arten gramnegative sind, braucht nicht ausschließlich von der Permeabilität der Zellmembran abhängig zu sein. Daß dies im Falle von Jod nicht geschieht, beweist das rasche Schwärzen der mit Gentiana gefärbten, gramnegativen Bakterien. Die Jodbeize dringt ein, und zwar unter Umständen so intensiv, daß man dadurch zu grampositivem Verhalten kommen kann. Es wird offenbar so viel Jod in der Zelle fixiert, daß sich in den ersten Minuten des Differenzierens der eindringende Alkohol so sehr mit Jod anreichert, daß er ein schlechtes Lösungsmittel für das in der Zelle gebildete Jodpararosanilin geworden ist. Tatsächlich nimmt die Löslichkeit dieses Farbstoffes in Alkohol bedeutend ab, wenn dieser jodhaltig ist. Bei einer gewissen Konzentration löst sich überhaupt kein Farbstoff mehr und die Differenzierung ist ganz unterdrückt. Unter geeigneten Versuchsbedingungen kann man mit starker Jodtinktur aus einer wässerigen Farblösung den Jodfarbstoff erzeugen und einen Niederschlag erhalten. Dadurch ist wahrscheinlich gemacht, daß die Entfärbung dem Massenwirkungsgesetze folgt. Dies scheint mir der Grund zu sein, daß stark jodierte, gefärbte Zellen grampositiv werden können. Des weiteren scheint dieses Verhalten zu beweisen, daß Jod von der gramnegativen Zelle sehr reichlich aufgenommen wurde, sonst könnte man das veränderte Gram-Verhalten kaum verstehen. Man behandle gramnegative und grampositive Bakterien gleichzeitig in der Jodbeize, wie sie zur Färbemethode angewendet wird. Man wird sich von der Permeabilität leicht durch die auftretende Färbung überzeugen können.

Die grampositiven Bakterien müßten ferner infolge „der spezifischen Permeabilität für Jod“ rascher abgetötet werden als gramnegative. Ich zweifle sehr daran, daß man bei einem solchen Versuche zu einem so einstimmigen Resultate kommen kann, wie dies mit dem Entscheide grampositiv und -negativ bei Kokken und Coli-Bacillen der Fall ist. Es scheint mir sehr wahrscheinlich, daß im Gegenteil, z. B. die als gramnegativen und nach der Theorie für Jod fast impermeablen Coli-Bacillen rascher zugrunde gehen als die spezifisch jodpermeablen Kokken.

Aus der Literatur lassen sich einige Arbeiten heranziehen, die namentlich in bezug auf die desinfizierende Wirkung des Jodes angestellt wurden, so z. B. tötet nach Podgorny Jod in 5—30 Minuten: Milzbrand 1 : 1500, Diphtherie 1 : 1350, B. coli 1 : 1200, B. typhi 1 : 600.

Aus obigen Angaben ist ein Beweis keinesfalls abzuleiten für die Jodundurchlässigkeit der gramnegativen Zellen. Die Angaben von Podgorny, nach welchem sich eine, wenn auch geringe, Abstufung von

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

grampositiven zu den gramnegativen zu ergeben scheint, können deshalb nicht herangezogen werden, weil die Einwirkungszeit zu verschieden war. Hingegen ist nach Kliszowsky die Widerstandskraft der Mikrokokken gegen Jod größer als die der gramnegativen. Nach Goebel lassen sich in einer 0,1-proz. Jodlösung überhaupt keine Unterschiede in der Wirkung des Jodes feststellen. In 1 Minute sind Streptococcus pyogenes, Staphylococcus pyogenes, Bac. pyocyaneus, Bac. coli, Diphtherie etc. abgetötet. Die Angabe von Kutscher, wonach Jodtinktur selbst nach 1 Stunde Kontakt keine Wirkung habe, bezieht sich auf Bac. pyogenes sowie auf Staphylococcus pyogenes, also eine gramnegative und eine gramfeste Art. A. Zancani findet, daß Streptokokken und Milzbrand, also grampositive, joddurchlässige Arten, durch folgende Desinficientien äquivalent beeinflußt werden: Karbolsäure 5 proz., Sublimat 1-proz., Jod 0,12-proz. (Versuche in Agar).

Wenn die Permeabilität, bestimmt an der lebenden Zelle, für das Gram-Verhalten verantwortlich gemacht werden soll, so müßte doch erwartet werden, daß auch die lebenden Zellen, je nach ihrer Art, sich gegenüber dem Jod selektiv verhalten. Oder sollte man annehmen, daß die gramnegativen Keime in so stark verdünnten Jodlösungen in einer Minute schon absterben, weil Jod nicht in dieselben eindringen kann und nur die Membran vergiftet? Schließlich sei noch erwähnt, daß nach Fischer (Vorlesungen, p. 15) Bac. subtilis (grampositiv) und Bac. coli (gramnegativ) insofern eine Ausnahme von anderen Bakterien machen, als mit Jod Glykogen nachweisbar ist.

Immerhin bleibt die Tatsache bestehen, daß die gramnegativen Keime plasmolysierbar sind. Es wurde aber schon erwähnt, daß diese Erscheinung nicht notwendigerweise ausschließlich eine Funktion der Membran ist. Sehen wir nun, worauf die Beurteilung der Permeabilität beruht. Fischer, der sich bakteriologisch mit diesen Untersuchungen eingehend und zuerst befaßte, nimmt als Kriterium der Permeabilität ein Loslösen des Plasmas von der Membran an. Das Plasma zieht sich von der Membran zurück; es bilden sich Vakuolen, während bei den Grampositiven eine Strukturänderung nicht bemerkbar ist; die Zelle bleibt vom Plasma gleichmäßig erfüllt. Bei diesen Untersuchungen wurde das Volumen der Bakterien nicht bestimmt und ist daher bei der Beurteilung nicht berücksichtigt.

Es dürfte also der strikte Beweis der Permeabilität nicht erbracht sein. Der histologische Befund ist allerdings für die Grampositiven und -negativen (übrigens nicht ausnahmslos) charakteristisch. Die Plasmolyse der Negativen ist für die Semipermeabilität beweisend; aber das Ausbleiben von Plasmakontraktionen bei den gramfesten beweist die Durchlässigkeit nicht. Ausschlaggebend wären erst Volumbestimmungen, sei es direkt oder mit der Hämatokritmethode; sodann besonders die chemische und physikalische Analyse.

Das Fehlen sichtbarer Plasmaveränderungen kann doch wohl auch durch Zellstrukturen oder verschiedene Membranresistenz bedingt sein. Es soll unten versucht werden, die Uebereinstimmung der osmotischen Verhältnisse mit dem Gram-Verhalten vom kolloidchemischen Standpunkte aus in Einklang zu bringen.

In einer neueren Publikation (dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 71. p. 420) betont übrigens Eisenberg mehr die Permeabilität der Keime für die Farbe. Der Farbstoff muß in die Zelle eindringen können, sodann muß er vom Protoplasma, resp. seinen Einschlüssen auch ge-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

speichert und zurückgehalten werden können. Die gradweise verschiedene Permeabilität für die Farbe wird in Verbindung mit der Plasmolysierbarkeit für die Methode als wesentlich betrachtet. Der verschiedenen Permeabilität für Jod scheint etwas weniger Wichtigkeit beigemessen zu sein als in früheren Publikationen. Im Schlußsatz 2 wird der Mechanismus der Gram-Färbung darauf zurückgeführt, daß grampositive Bakterien das Violett leichter aufnehmen (vielleicht auch das Jod) und die resultierende Jodverbindung stärker festhalten als die wenig permeablen gramnegativen. Schlußsatz 22. Die Ursache der Elektivität liegt in der großen Permeabilität, zum Teil in dem großen Speicherungsvermögen der grampositiven Arten für Farbstoffe. Letzterer Schluß stützt sich wohl nur auf die Beurteilung der Färbung, nicht aber auf eine quantitative Analyse des aus der Flotte verschwundenen Farbstoffes.

Nicht unerwähnt darf bleiben, daß die Gewinnung von Endoenzymen durch Narkose der Zellen oder vorsichtiges Abtöten durch Erwärmen möglich ist. Die Undurchlässigkeit der Zelle verschwindet bei Schädigung oder Tod der Zelle.

Wenn durch starke Jodbeize nach der Färbung die gramnegativen Bakterien gramfest werden können, so ist die Annahme einer geringeren Permeabilität der Farbe mit diesem Verhalten nicht in Einklang zu bringen.

Verschiedene andere Punkte, welche gelegentlich in Sachen der Gram-Theorie ins Feld geführt wurden, sollen vorerst unerörtert bleiben, da eine eingehende Behandlung zu weit führen würde. Aus den nachfolgend entwickelten kolloidchemisch-optischen Gesichtspunkten ergeben sich weitere Anhaltspunkte für die Beurteilung dieser Frage. Ich fürchte zwar, daß die Angaben etwas kurz gehalten sind für den der Kolloidchemie fernstehenden Forscher, hoffe aber, später in einer Arbeit über „Zellstruktur, Plasmafunktion und Vererbung, vom kolloidchemischen Standpunkte aus betrachtet", näher auf diese Verhältnisse eingehen zu können.

Kolloidchemisch-optische Gesichtspunkte.

Für das Zustandekommen der Gramschen Färbung scheint in erster Linie die Dauer der Differenzierung maßgebend zu sein, da ja auch gramnegative Arten unter Umständen den Farbstoff stark zurückhalten können. In praxi ist jedoch diese Frage insofern geregelt, als die Differenzierung in dem Augenblicke unterbrochen wird, wenn das Präparat mikroskopisch keine Farbe mehr abgibt. Die mikroskopische Prüfung ergibt dann Bakterien, die entweder sehr stark gefärbt, blaß gefärbt oder ungefärbt erscheinen, je nach der angewandten Bakterienart.

Wenn wir uns fragen, worauf der Unterschied von grampositiv oder -negativ beruht, so kommen in erster Linie optische Faktoren, also Lichtverhältnisse, Mikroskop und Auge in Betracht. Mit diesen Hilfsmitteln haben wir zu entscheiden, ob ein kleines Körperchen gefärbt ist oder nicht. Erörtern wir vorerst den letzteren Punkt, das gefärbte Bakterium.

Wenn angenommen wird, daß das ganze Bakterium, also die ganze Zelle, sich in bezug auf die Färbung gleichförmig verhält, daß also das ganze Körperchen gleichmäßig sich färbt, die Farbe in allen Teilen gleichmäßig fixiert, so käme für die Beurteilung auch die ganze Zelle in Betracht. Dies ist wohl die allgemeine Ansicht, die aber nicht stichhaltig ist und sicher nicht zutrifft. Die Bakterienzelle ist, wie jede andere, lebensfähige Zelle, als ein kolloides System aufzufassen, in welchem namentlich Form und Verteilung von flüssigen und festen Phasen von besonderer Wichtigkeit sind.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das, was schlechthin vom Histologen als Zellsaft bezeichnet wird und dessen flüssiger Zustand anerkannt wird, ist keine einheitliche Flüssigkeit. Das beweist die chemische Analyse zur Genüge, sicherer aber noch die ultramikroskopische Untersuchung von Zellsäften, die dem Auge völlig klar erscheinen. In dem Zellsafte sind meist feste Bestandteile vorhanden, die sich schon ohne Färbung leicht feststellen lassen. Für allgemein physiologische Betrachtungen habe ich diese beiden Bestandteile als Plasmosol und Plasmogel bezeichnet, was vom didaktischen Standpunkte aus einigen Wert hat, wie aus nachfolgenden Betrachtungen hervorgehen dürfte. Ohne hier näher für diese Auffassung eintreten zu wollen, sei nur folgendes als für unser Problem der Gram-Färbung wichtig hervorgehoben:

Die Zelle wird als ein physikalisch-chemisches System aufgefaßt, in welchem der Kern insofern keine Sonderstellung einnimmt, als seine flüssige und feste Phase von derjenigen des Protoplasmas nicht getrennt wird. Als wesentlich wird die chemische Zusammensetzung und sodann der physikalische Zustand betrachtet; der Begriff „Kern" ist rein morphologisch. Hingegen dürfte als feststehend angenommen werden, daß sich die Kerne durch einen besonders großen Gehalt saurer Bestandteile, Nukleoproteide, auszeichnen, welche die basischen Anilinfarben besonders energisch sorbieren[1]), sich also besonders echt färben.

Es wurde schon oben erwähnt, daß dieser Bestandteil für die Gramsche Färbung verantwortlich gemacht werden soll. Man könnte sich nun einfach mit der Annahme behelfen, daß in den gramfesten Bakterien besonders viel, in den zweifelhaften weniger und in den entfärbbaren keine Nukleoproteide vorhanden seien. Dies wäre jedoch nicht richtig, denn die Erfahrung zeigt, daß auch gramnegative Keime bei geeigneter Behandlung positiv werden können und umgekehrt. Ferner wird den Nukleoproteiden oder Kernbestandteilen eine zu wichtige Rolle im Leben der Zelle zugemessen, als daß angenommen werden dürfte, daß dieselben bald fehlen, bald vorhanden seien, etwa wie indifferente Zelleinschlüsse. Die chemische Analyse hat endlich festgestellt, daß auch gramnegative Bakterien Nukleine besitzen. Leider scheinen keine vergleichend-quantitativen Untersuchungen vorzuliegen, die sich auf die ausschlaggebende Bestimmung der Purinbasen bei gramnegativen und -positiven Arten beziehen. Die Beschaffung von genügendem und einwandfreiem Bakterienmaterial, sowie die genaue Bestimmung kleiner Mengen von Purinbasen verursachen große Schwierigkeiten.

Für die Färbung und namentlich für die Intensität derselben ist aber der größere oder geringere Gehalt an Nukleoproteiden, kurz Kernsubstanz, nicht einmal maßgebend. Bei einem großen Gehalt kann es zu einer sehr geringen Färbung kommen und umgekehrt, denn maßgebend ist in erster Linie die Größe und die Zahl der sich färbenden Micellen. Das Nukleoproteid bildet allem Anscheine nach ein Emulsoid in den Bakterien und anderen Zellen, wobei die Größe der Körnchen vom Zustande der Zelle abhängt. Der Begriff „Zustand der Zelle" ist vorläufig natürlich ein sehr vager, der sich aber immerhin mit den histologischen Befunden (homogene, körnige, wabige Struktur etc.) deckt und zugleich das Problem der Gramschen Färbung ohne Schwierigkeit definiert.

---

1) „Sorption" bezeichnet das Zustandekommen fester Lösungen und Adsorptionen bei der Färbung. Färbetheorie von G. v. Georgieviecs.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es ist bekannt, daß die Teilchengröße in kolloiden Lösungen weitgehenden Schwankungen unterworfen ist. Von der Molekulargröße, den Submikronen bis in die mit geringer Vergrößerung auflösbaren Suspensionen resp. Emulsionen, können, namentlich in organischen Präparaten, alle Dimensionen nachweisbar werden. Scheinbar ganz geringfügige Aenderungen der Zusammensetzung der Lösung, besonders in bezug auf Reaktion und Oberflächenspannung, rufen sehr rasch die tiefgreifendsten Aenderungen hervor, und zwar im Sinne einer Vergrößerung der Teilchen (Trübung und Ausflockung) oder einer Verkleinerung (Peptisation) derselben.

Stellen wir uns vor, diese Teilchen nehmen die Gram-Färbung sehr intensiv an, es bilde sich gar eine chemische Verbindung, die unter dem Einfluß des Jodes im Farbenton verstärkt und farbechter gemacht wird. Was wird das Resultat der Färbung sein in dem Falle, wo bestimmte Mengen gefärbter Substanz, aber in verschiedener Verteilung und Körnchengröße, in 2 Zellen sich vorfinden? Ein Versuch in vitro wird ohne weiteres den großen Unterschied zeigen.

Man nehme 2 Kölbchen mit genau gleichen Mengen 1-proz. Platinchloridlösung, die mit etwas Gummi arabicum versetzt sind, fügt zu dem einen etwa das 100-fache Quantum Wasser und reduziert alsdann beide Präparate mit der gleichen Menge Hydrazinlösung im Ueberschuß. Nach vollzogener Reaktion bringt man beide Lösungen durch Verdünnung auf das gleiche Volumen, so daß also in beiden Präparaten die Konzentration (also die Menge) des Platins dieselbe ist. Es hat sich kolloidales Platin von sehr verschiedener Teilchengröße gebildet. Trotzdem dieselbe Menge Platin in beiden Präparaten vorhanden ist, zeigt die Färbung einen eklatanten Unterschied. Werden die Lösungen entsprechend verdünnt, so ist die eine Lösung noch tief braunschwarz, die andere hingegen fast farblos. Es kann nicht daran gezweifelt werden, daß die Teilchengröße diese Farbenunterschiede hervorbringen, wie The Svedberg eingehend dargetan hat. In vorliegendem Falle, bei der gewählten Versuchsanordnung, ist die fast farblose Lösung ein ziemlich grobes Dispersoid; die Zunahme der Färbintensität ist durch die Abnahme der Teilchengröße gegeben (bei weiterhin verminderter Teilchengröße nimmt die Farbeintensität ab, cf. Svedberg).

Diese Feststellung gilt für die Beurteilung mit dem unbewaffneten Auge. Unter dem Mikroskop zeigt die fast farblose Lösung schon bei mittlerer Vergrößerung zahlreiche Teilchen; die tiefgefärbte ist optisch fast leer; erst mit dem Dunkelfeld-Kondensor erscheinen die zahlreichen kleineren Teilchen. Wenden wir diese Tatsache auf die Beurteilung der Färbung der Bakterienzelle oder der histologischen Bildbeurteilung überhaupt an, so sind folgende Punkte ausschlaggebend:

1) Sind in einer Zelle Teilchen von 0,1 μ vorhanden, so ist die Grenze der Definierbarkeit auch für die besten Objektive erreicht. Zwar wird sich das Teilchen noch bemerkbar machen, aber Farbenunterschiede werden verschwinden; liegen solche, auch stark gefärbte Teilchen in Distanzen von etwas über 0,1 μ voneinander entfernt, so werden die von unten kommenden Lichtstrahlen an den Körnchenkanten derart abgebeugt, daß die Teilchen nicht mehr gefärbt erscheinen können, da die Lichtstrahlen über dieselben hinwegfluten. Die Beugungserscheinungen werden um so mehr ausgeprägt sein, je enger die Spalten zwischen den gefärbten Körnern sind; im extremen Falle ist die Beugung bis über 90°, so daß das Licht „um die Körner herumkriecht"!

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) Werden die Körnchen kleiner, so entziehen sie sich der Beobachtung vollständig. Es hängt in diesen Fällen auch namentlich davon ab, bei welchem Lichte gearbeitet wird. Bei Demonstrationen ist es mir aufgefallen, daß durchweg viel zu viel Licht angewendet wird; die feineren Einzelheiten verschwinden fast vollständig, die Färbung wird schwach. Mit Recht sagt Bütschli: „Besonders den Bakteriologen gegenüber dürfte die weitere Bemerkung erlaubt sein, daß feinere Strukturen nie bei intensiver Beleuchtung (hoher Einstellung des Abbeschen Beleuchtungsapparats), sondern nur bei genügend gedämpftem Licht sichtbar werden." (Ueber den Bau der Bakterien. p. 35. Mitte.)

Daß die Lichtintensität gerade bei der Gram-Methode wichtig ist, davon wird man sich leicht überzeugen, wenn Bakterien, die im starken Lichte eben vollständig entfärbt erscheinen, bei abgeblendetem oder schwächerem Lichte weiter untersucht werden. Sehr oft wird dann eine mehr oder weniger ausgesprochene Färbung sichtbar werden. Damit ist auch der unmittelbare Beweis gegeben, daß die Zelle tatsächlich noch gefärbte Substanzen enthält, deren Nachweis aber besonderer Sorgfalt und Uebung bedarf. Das an den Micellenrändern gebeugte Licht wirkt je nach der Intensität mehr oder weniger störend (1).

3) Wenn also in Bakterien die gramfeste Substanz in feiner Verteilung vorhanden ist und zwischen den gefärbten, 0,1—0,15 μ großen Körnchen Zwischenräume von mindestens derselben Größenordnung vorhanden sind, so wird das Präparat ungefärbt erscheinen müssen.

4) Werden die Intermicellarräume enger, so ist das Auftreten einer Färbung zu erwarten, indem dann, immer bei derselben Schichtdicke (Größe der Zelle) und Form des Bakteriums, eine bedeutende Lichtabsorption eintritt. Hierher sind wohl die nach Gram nur zweifelhaft sich färbenden Keime zu zählen, die das schöne Tiefblau vermissen lassen und mehr diffus gefärbt erscheinen.

5) Bei den typisch gramfesten Bakterien handelt es sich offenbar um Körnchen, die 0,1 μ und mehr Durchmesser haben; dieselben können gleichmäßig in der Zelle verteilt liegen, die Färbung wird sich immer geltend machen, auch wenn die Intermicellarräume größer sind. Wenn keine Tendenz zu Zusammenballung und Ausflockung vorliegt, werden tiefer, zwischen oberflächlichen Körnchen liegende, verhindern, daß die Färbung infolge durchstrahlenden Lichtes geschwächt erscheint.

6) Oefter wird man bei gramfesten Keimen eine mehr oder weniger starke Anhäufung, Confluction von Micellen beobachten können, die von den Autoren als Granula oder Kern interpretiert werden. (Aenderung der Dispersität in Emulsoiden, Trübung, Emulsion.)

Wenn obige Annahmen richtig sind, so müssen alle Vorkommnisse bei der Gram-Färbung eine ungezwungene Erklärung finden. Da die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Nukleoproteide für vorliegenden Zweck genügend bekannt sind, so müssen diejenigen Eingriffe, **welche Zustandsänderungen dieser Substanz hervorrufen, auch Aenderungen im Verhalten nach Gram bedingen.** Vom kapillarchemischen Standpunkte aus sind ferner Abnormitäten bei der Färbung nach Gram vorauszusehen, die von keiner Zustandsänderung der gramfesten Substanz abhängen können.

Es sind nachgerade diese abnormen Verhältnisse, an welchen die Theorie am geeignetsten geprüft wird. Betrachten wir einige solcher Fälle; um Wiederholungen zu vermeiden, sind oben die wesentlichen Punkte numeriert, um den Hinweis zu erleichtern

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

I. Durch längere Behandlung gramnegativer Bakterien mit Jodjodkali werden dieselben gramfest, sie widerstehen der Extraktion lange Zeit (Neide).

Bei gramnegativen Keimen findet sich die gramfeste Substanz in feiner Verteilung, die Intermicellarräume sind klein (3 und 4), d. h. die Körnchen sind durch kleine Zwischenräume getrennt. Die spezifische Oberfläche des Nukleins ist außerordentlich groß, die Zwischenräume sind eng. Dadurch sind die Bedingungen für ein besonders starkes Festhalten von adsorbierten Substanzen gegeben.

Bei der Färbung wird die Farbe von den Nukleoproteidteilchen aufgenommen, während in den Zwischenräumen, im Plasmosol, die Farbe die Konzentration der Flotte nach Einstellung des Gleichgewichtes erreicht. Es sind also die Nukleoproteidmicellen stark gefärbt, und zwar eben so stark, wahrscheinlich aber stärker (Oberflächerwirkung), als bei grampositiven Keimen.

Die der Färbung nachfolgende Jodbehandlung fällt erst in den intermicellaren Räumen Jodgentianafarbstoff aus, welcher sich an den Micellen niederschlägt; es bildet sich ferner aus den Micellen die Nukleoproteid-Jodpararosanilinverbindung (Sorptionsverbindung).

Die Jodbehandlung, durch sehr lange Zeit fortgesetzt, sättigt die Zelle ganz ab, so daß bei nachfolgender Differenzierung der verwendete Alkohol freies Jod und Jodkali löst. Jodhaltiger Alkohol löst die Jodfarbe um so schlechter, je mehr Jod er enthält. Eine 5-proz. Jodtinktur löst den Jodfarbstoff (in den Intermicellarräumen) schwer, fast gar nicht die Jodfarbenukleinverbindung (der Micellen). Durch den Jodniederschlag in der Zelle sind die Micellen vergrößert, die Intermicellarräume vom Jodfarbstoff und Jodjodkali erfüllt, unwegsam, und erst nach längerer Alkoholbehandlung wird die Jodfarbe völlig ausgewaschen, wobei die Micellen noch gefärbt sein können, ohne daß sie sichtbar sind. Gerade bei dieser Differenzierung überjodierter, gramnegativer Keime spielt die Beleuchtung des Präparates eine große Rolle (1—2).

Für obige Erörterungen ist folgendes zu berücksichtigen:

Die Adsorption wird sich vorerst in den äußeren Schichten der Zelle besonders stark abspielen und das Jodjodkali nur allmählich durch die engen Zwischenräume hindurch sich auch im Innern der Zelle anreichern und konzentrieren. Die außerordentlich große Adsorptionsfähigkeit sehr fein verteilter Substanzen ist bekannt (Kohle, Bariumsulfat etc.). Bei Platinschwamm ist in Knallgasgemischen diese Anreicherung und Verdichtung auf der großen Oberfläche derart, daß es zur Selbstentzündung kommt.

Verwendet man für die Differenzierung normal vorbehandelter Präparate jodhaltigen Alkohol, so kann man dieselben Resultate erhalten; die gramnegativen bleiben, je nach der Jodkonzentration, mehr oder weniger lange gefärbt.

Das Auftreten von violetten Zellen bei der Färbung nach Kronberger (s. unten) deutet darauf hin, daß die Intermicellarräume durch Eosin gefärbt sind; die Micellen sind durch Farbabsorption noch vergrößert, blau, wodurch die violette Färbung zustande kommt. Bei etwas kleineren, also von adsorbiertem Jodfarbstoff befreiten, Micellen prädominiert das Eosin; die Bakterien sind rot.

Die starke Absorption der Farbe und des Jods vergrößern die Micellen und verkleinern die Zwischenräume. Bei der Differenzierung wird dann die Gram-Dauer verlängert, die Zelle gramfest.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In Reinkulturen treten Keime auf, die sich gegen Gram abnorm verhalten.

In erster Linie ist eine Arbeit von Hans Kronberger heranzuziehen, welche zwar die Frage der Färbung in bezug auf andere Gesichtspunkte behandelt.

Verf. färbt direkt mit wässeriger Farblösung, beizt mit Esbach-Reagens und differenziert mit Eosin (alkoholisch oder wässerig). Diese Methode hat, allerdings ohne das Esbach-Reagens, Resegotti (1888) in die Histologie eingeführt und als Regel aufgestellt, daß Farbstoffe, die regressiv keine Kernfärbung geben, die Farbstoffe auswaschen, die eine solche Färbung liefern (zit. Lee-Meyer, Mikroskopische Technik). Wenn Kronberger betont: „Es ist klar, daß es sich bei dieser Entfärbung und Eosinnachfärbung nicht um eine einfache Farbstoffextraktion und Substitution durch die Eosinlösung handeln kann" (p. 242), so setzt er sich damit in einen Widerspruch mit Resegotti und wahrscheinlich mit vielen Histologen. Wird die Eosinlösung alkoholisch genommen, so ist dem Alkohol als Lösungsmittel sicher eine extrahierende Wirkung nicht abzusprechen.

Die Färbung in kalter, rein wässeriger Methylenblau- oder Gentianaviolettlösung während nur $^1/_2$ Minute liefert sicher keine besonders intensive, also relativ leicht auswaschbare Färbung. Bei regressiven Färbungen mit diesen Farben ist aber im allgemeinen auf eine starke Einwirkung der Farbe zu sehen.

Diese Färbungen scheinen mir deshalb für die Theorie der Gram-Festigkeit wertvoll, als sie bestimmte physikalisch-chemische Zustände der Zelle zum Ausdruck bringen. Mit keiner aufgestellten Theorie der Gram-Färbung lassen sich die Resultate Kronbergers einwandfrei in Zusammenhang bringen, denn das „positiv" oder „negativ" wird im allgemeinen zu stark betont. Ob übrigens in Fig. 7 Bac. coli als Reinkultur vorlag, dürfte zweifelhaft sein, wenn die Isolierung nach p. 244, also einfacher Faecesausstrich, vorgenommen wurde.

In den Figuren Kronbergers treten grampositive und -negative Keime in demselben Präparate der Reinkultur auf, sowohl bei B. coli wie auch bei Staphylokokken, also eine Umstimmung, wie sie bei starker Jodbeize erzielt wird. Nach den angenommenen kolloidchemischen Verhältnissen wird durch die Färbung eine bestimmte, mehr oder weniger feine Verteilung des Chromatins der Bakterienzelle hergestellt. Die Konsequenzen sind immer dieselben (siehe oben). Es scheint mir dadurch die Annahme sehr naheliegend, daß bei Bakterien, genau so wie bei höher organisierten Zellen, die Menge des histologisch darstellbaren Chromatins in sehr weiten Grenzen schwankt. E. Masing kommt zu dem Schlusse, daß bei Seeigeleiern sich die sichtbare Chromatinmasse im Laufe der Furchung um das 100-fache vermehrt, sowie daß das ungefurchte Ei bedeutende Mengen Nukleinsäuren im Protoplasmaleibe enthalte. Ist das Chromatin im Plasma der sich teilenden Eier fein genug verteilt, so wird es sich ebenso der Beobachtung entziehen wie die Micellen in gramnegativen Bakterien. Die absolute Menge Kernsubstanz ist nicht maßgebend für die färberische Darstellbarkeit. Aenderungen im Dispersionsgrade der sauren Zellbestandteile (Nukleine) sind, namentlich bei größeren Zellen (Hefen), leicht nach Färbung zu beobachten und als Folge physiologischer (oder pathologischer) Funktionen gedeutet (Erscheinungen bei Zellteilung, Stoffwechselvorgängen etc.).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In den folgenden Gram-Anomalien finden wir dieselben Dispersitätsänderungen auf künstlichem Wege hervorgerufen.

Bei der Verdauung, namentlich mit Trypsin, geht die Färbbarkeit nach Gram verloren.

Durch Einwirkung von proteolytischen Fermenten werden die Nukleoproteide zersetzt unter Eiweiß- resp. Pepton- und Nuklein-Abspaltung. Dadurch wird der Dispersitätsgrad infolge Peptisation erhöht, wodurch Verhältnisse geschaffen werden, welche den gramnegativen und mehr oder weniger -positiven Bakterien eigen sind. Die mehr oder weniger großen Nukleoproteidteilchen müssen der Peptisation einen verschiedenen Widerstand bieten, so daß durch die Verdauung nicht alle Teile gleich rasch im Gram-Verhalten umgestimmt werden.

Die Bakterienart, die Intensität der Fermentwirkung, Temperatur und Reaktion des Verdauungsgemisches müssen in gleichen Zeiträumen der Einwirkung verschiedene Bilder liefern, die mit den nach Kronbergers Methode erhaltenen übereinstimmen. Bei solchen Versuchen ist gelinde Verdauung zu empfehlen. Diesbezügliche Versuche wurden nicht angestellt.

Grampositive Zellen werden durch Fermente deshalb schwerer gelöst als die negativen, weil die Nukleoproteide an und für sich schwer angreifbar sind. Dieselben beteiligen sich wahrscheinlich, wie unten dargetan wird, an Strukturverhältnissen in der grampositiven Zelle (vgl. Plasmolysierbarkeit).

Grampositive Bakterien aus alten Kulturen zeigen die Neigung, sich nach Gram zu entfärben.

In diesem Falle wirken autolytische Fermente mit demselben Erfolge, wie im vorigen Beispiel. Für unsere Betrachtungsweise bietet dieser Fall nichts Neues, denn die Art und Weise der Peptisation ist gleichgültig; bestimmend für den Erfolg der Färbung ist nur der Grad derselben.

Die Umstimmung des Gram-Verhältnisses durch Vorbehandlung mit Chromsäure und anderen Oxydationsmitteln bietet für die Theorie der Gram-Färbung kein Interesse. Solche Lösungen wirken als Beizen; sie können die Oberflächen chemisch und physikalisch verändern, wodurch der Charakter der Färbung leicht beeinflußt wird. Mit der Färbung nach Gram haben solche Vorschriften nichts gemein.

Die Uebereinstimmung der Permeabilität oder besser der Plasmolysierbarkeit der Bakterien mit dem Gram-Verhalten.

Die Uebereinstimmung des Gram-Verhaltens mit der Plasmolysierbarkeit der Bakterienzelle wurde ohne weiteres auf verschiedene Permeabilität zurückgeführt. Schon oben wurde bemerkt, daß aus dem Ausbleiben einer sichtbaren Kontraktion des Protoplasten, unter Loslösen desselben von der Zellmembran, noch kein einwandfreier Beweis bezüglich der Permeabilität gegeben ist. Zur Sicherstellung dieser Ansicht sollten noch direkte Methoden angewendet werden; es wäre doch auch möglich, daß infolge bestimmter Schaum- resp. Waben- und Netz-Strukturen die Plasmolyse sich der direkten mikroskopischen Beobachtung entzieht. Das Plasma könnte sich auf die sich nicht von der Zellmembran lösenden Waben- oder Schaumwände oder auf Plasmanetze verdichten. Jede einzelne Schaum- resp. Wabenzelle wäre in diesem Falle ein, allerdings optisch nicht auflösbares, plasmolytisches System. Diese Ansicht ist annehmbar, falls Versuche die Impermeabilität der grampositiven Bakterien erwiesen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es wäre aber auch der Fall denkbar, daß die Gram-Bakterien keine Plasmolyse zeigen, weil die Zellwand der Kontraktion des Protoplasten, wenigstens teilweise, folgt. Nach der oben entwickelten Ansicht über das Gram-Verhalten sind bei den grampositiven Keimen gewisse Plasmastrukturen zu erwarten. Die Nukleoproteidteilchen sind größer, teilweise agglutiniert. Für das Bakterienplasma hat ferner Bütschli Schaumstrukturen nachgewiesen. Die grampositiven Micellen sind in diesem Falle in den Wabenwänden zu erwarten, falls dieselben nicht als Granula auftreten, ähnlich wie diese Körper sich im Kerngerüst der Zellen finden. Gewisse, besonders grampositive Bakterien sind ja auch als Kerne mit minimaler Protoplasmahülle gedeutet worden (Klebs, Bütschli).

Schlußfolgerungen.

Das Verhalten der Bakterien bei der Gram-Färbung wird zurückgeführt auf den Grad der Dispersität, die Art und Weise der Verteilung der Nukleoproteide in der Zelle und der optischen Auflösbarkeit dieser gramfesten Teilchen. (Andere saure Zellbestandteile können sich gelegentlich an der Färbung beteiligen.) In den gramnegativen Mikroben bildet das gefärbte Nukleoproteid ein Kolloid von so hoher Dispersion, daß die optische Auflösung der einzelnen Teilchen nicht mehr gelingt, wobei Beugungserscheinungen (des oft zu intensiven Lichtes) an den Micellen das Entfärben verstärken. Bei grampositiven Keimen bilden die gefärbten Nukleoproteidteilchen ein mehr oder weniger grobes Emulsoid, wobei sich die Micellen wahrscheinlich an Zellstrukturen beteiligen, ähnlich wie dies im Kerngerüst höherer Zellen der Fall ist.

Grampositive Keime werden negativ, wenn der Dispersionsgrad erhöht wird (Peptisation durch Fermente). Infolge schwererer Angreifbarkeit der grobdispersen Nukleoproteide durch Fermente werden die grampositiven Zellen der vollständigen Auflösung länger widerstehen als die anderen.

Literatur.

Brudny, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 21. p. 62 ff.
Bütschli, Bau der Bakterien.
Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. p. 420.
Erdmann, Arch. f. Zellforsch. Bd. 2. p. 76.
Feeser, Alb., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. p. 137.
Fischer, Fixierung, Färbung etc.
Galeotti, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 25. p. 48.
Georgieviecs, z. B. cf. Chemiker-Ztg. 1914. p. 505.
Grimme (zit. Brudny).
Goebel, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. p. 86 ff.
Guerbert, Maurice, Mayer, André, et Schäffer, Georg, Compt. rend. Soc. Biol. T. 68. p. 353.
Heidenhain, M., München. med. Wochenschr. 1902. p. 437.
Hottinger, Rob., Inaug.-Diss.
Kantorowicz, München. med. Wochenschr. 1909. p. 897.
Kliszowsky, Inaug.-Diss. (zit. Maly, Jahrb. Tierchem. Bd. 34. p. 943).
Kronberger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. p. 240.
Kruse, München. med. Wochenschr. 1910. p. 685.
Lee-Meyer, Mikroskopische Technik. p. 175.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lilienfeld, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1893 (zit. Galeotti).
Masing, E., Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. 67. p. 161.
Neide, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. p. 508.
Nikitin, zit. Eisenberg.
Podgorny, zit. Macé, Traité de Bact.
The Svedberg, Die Existenz der Moleküle.
Toyosaku Nisihimura, Arch. f. Hyg. Bd. 18. p. 328.
de Waele, H., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. p. 40. (zit. Kantorowicz).
Zancani, zit. Maly. p. 40.

Nachdruck verboten.

Ueber eigenartige Malariaparasitenformen.

[Aus dem pathologischen Museum der Universität Berlin (Leiter: Geh.-Rat Orth).]

Von Prof. **H. Ziemann,** Charlottenburg.

Mit 1 Tafel.

Die große Mehrzahl der Forscher dürfte neuerdings von dem Vorhandensein mehrerer Malariaparasitenarten überzeugt sein, namentlich nachdem auch in den „Kulturen" sich gezeigt hat, daß die morphologischen und biologischen Charaktere, z. B. des Tertian- und des Perniciosaparasiten, sich erhalten, selbst wenn diese Kulturen, wie wenigstens in einem von mir beobachteten Falle von Perniciosa, 6 Tage lang lebend erhalten blieben. Wir wollen daher an dieser Stelle nicht noch einmal den alten Streit, ob ein oder mehrere Arten Malariaparasiten zu unterscheiden sind, erörtern. Jedenfalls nehmen die meisten Autoren das Vorhandensein dreier Parasitenarten an, 1) des Tertian-, 2) des Quartan- und 3) des Perniciosaparasiten. Bei letzterem wieder werden bekanntlich von mehreren Autoren, z. B. von Celli, Marchiafava und anderen, neuerdings auch von Craig, Bates und Mine unterschieden maligne Tertian- und Quotidianparasiten. Die Quotidianparasiten wurden von Mannaberg und Manson wiederum eingeteilt in pigmentierte und unpigmentierte Quotidianparasiten. Ich habe bereits in der 1. Auflage meiner Arbeit über Malaria und Schwarzwasserfieber im Menseschen Handbuch der Tropenkrankheiten ausgeführt, daß ich die Einteilung in maligne Tertian- und Quotidianparasiten und damit die Trennung in pigmentierte und unpigmentierte Quotidianparasiten nicht anerkenne, wohl aber unter den Perniciosaparasiten den gewöhnlichen malignen Tertianparasiten der Italiener und den Parasiten der westafrikanischen Perniciosa trenne. Neuerdings bin ich geneigt, die in der 1. Auflage meiner Arbeit in Menses Handbuch beschriebenen Perniciosaparasiten nicht nur in 2 Varietäten, sondern sogar in 2 Arten einzuteilen: a) Plasmodium praecox (Grassi u. Feletti), Syn. Plasmodium immaculatum bzw. Plasmodium falciparum, d. h. die Formen, wie sie z. B. in Italien und den meisten Tropengegenden gefunden werden, und b) Plasmodium perniciosum, die besonders für Westafrika charakteristischen Formen. Als Unterschiede von No. b gegenüber No. a möchte ich folgende hervorheben:

1) Bildung von weniger Pigment;
2) etwas helleren Farbenton des letzteren;

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3) durchgehends Verschwinden aus dem peripheren Blute nach Erreichung der Siegelringgröße, was bei No. a durchaus nicht immer der Fall ist;
4) Fehlen der Messingfarbe der infizierten roten Blutkörper;
5) frühzeitigeres Eintreten der Schizogonie (schon bei einer Größe des Parasiten von $^1/_3$—$^1/_2$ des roten Blutkörpers), ferner scheinbar weniger Merozoiten (nur 12—16);
6) viel seltenere Neigung zur Halbmondbildung;
7) in Fällen der Halbmondbildung kleinere und plumpere Formen der Halbmonde;
8) der Umstand, daß die freien Sphären der Kameruner Perniciosa an die der gewöhnlichen Tertiana wegen des feinen, braunen Pigments erinnern können, nur daß sie $^1/_2$—$^1/_3$ kleiner sind.

Von praktischer Bedeutung ist es allerdings nicht, ob man nun 2 Varietäten oder Arten bei den Perniciosaparasiten unterscheidet.

Die Beschreibungen Marchoux' von Perniciosaparasiten am Senegal erinnern ebenfalls an unsere Kameruner Parasiten.

Perniciosaformen mit besonders starker Chromatinentwickelung.

Formen, wie ich sie in Kamerun zweimal bei Perniciosa beobachtet habe, bei denen es zu ganz ungewöhnlich starker Entwickelung des Chromatins schon in den Jugendstadien kam, konnte ich seinerzeit noch nicht als Ausdruck einer besonderen neuen Form ansprechen. Klinisch zeichneten sich beide Fälle, darunter speziell der eine, der einen Regierungsarzt selber betraf, durch seltene Hartnäckigkeit und Chininresistenz aus. Im übrigen glichen die im Blute allein sichtbaren Ringformen dieser Parasiten ganz den sonst beobachteten. Schon das ganz isolierte Auftreten dieser letzteren, ganz besonders chromatinreichen Formen (nur 2 Fälle bei Tausenden von Untersuchungen) berechtigten nicht zur Annahme einer besonderen neuen Art, als für vielmehr einer zufälligen Variante. Daß etwa durch besonders starke Färbung das Chromatin in den betreffenden 2 Fällen besonders stark erschienen sei, also artifizielle Bildungen vorlagen, möchte ich entschieden bestreiten, da die Färbetechnik stets dieselbe war. Die Formen waren so auffallend, daß sie den Kollegen als ganz ungewöhnlich demonstriert wurden. Jedenfalls sei auf solche Formen erneut die Aufmerksamkeit gelenkt.

Meine frühere Annahme, daß wir unter den Perniciosaparasiten auch in den Tropen mindestens 2 verschiedene Varietäten, wie ich glaube, sogar Arten, annehmen können, wurde auch durch eine spätere Mitteilung Mines bestätigt. Derselbe trennte in Formosa von den gewöhnlichen malignen Tertianaparasiten Perniciosaparasiten, die nur 6—12 Merozoiten bildeten und durch frühzeitige Teilung (bei $^1/_2$—$^1/_3$ Größe gegenüber dem roten Blutkörper), durch früheres Verschwinden aus dem peripheren Blute, sowie durch helleres Pigment und seltene Halbmondbildung sich unterscheiden sollten. Mines Parasiten erinnerten also immerhin an mein Plasmodium perniciosum.

Eigenartige Parasitenformen aus Khartoum.

Dann fand ich in dem III. Report of the Wellcome Research Laboratories in Khartum von Balfour u. Chalmers. 1908. Taf. 7

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Formen abgebildet, cfr. Fig. 1—10, die sich zweifellos von gewöhnlichen Tertian- und Perniciosaparasiten, gar nicht zu reden von Quartanparasiten, unterschieden, Formen, die ich wegen ihrer Eigenart auch für die 2. Auflage meiner Arbeit schon vor langem reproduzieren ließ. Leider fand ich in dem betreffenden III. Report gar keine weiteren Mitteilungen über die Parasiten, speziell auch nicht bezüglich der Schizogonie und der Gametenformen. Durch Zufall wurde erst kürzlich in dem „Review of some of the recent advances in tropical medicine" (Supplement of the third report, cfr. oben, 1908. Khartoum, p. 110) folgender kurze Hinweis entdeckt:

"In the blood of a case which had become infected at Taufikia, on the White Nile, I found the curious amœboid forms shown in Plate VII, Third Report. A parasite closely resembling a trypanosome will be observed. It differs from the hæmogregarine forms described by Billet, and, as it was the first parasite found in the film, proved, for the moment, puzzling, although clinically the case was one of malaria. On the following day a few crescents were found. Quinine soon caused the disappearance of the endoglobular forms."

Warum und inwieweit sich die betreffenden Formen von den anderen Malariaparasiten unterschieden, war also nicht gesagt. Gebraucht ist nur der Ausdruck „puzzling". In Präparaten, die mir auf meine Bitte aus Khartoum des Vergleichs halber im letzten Jahre 2mal gütigst gesandt wurden, fand ich indes jene Formen nicht wieder. Es handelte sich bei den mir gesandten Präparaten nur um die gewöhnlichen Perniciosaparasiten. Die 1908 in den Reports des Wellcome Research Instituts abgebildeten Parasiten waren durch folgende Kennzeichen aufs deutlichste von den anderen bekannten Parasiten verschieden:

1) Sie ließen die Ringform der Perniciosa- und der jungen Tertianparasiten völlig vermissen;
2) sie mußten wegen der langen phantastischen Ausläufer des Plasmaleibes ganz ungewöhnlich amöboid beweglich sein;
3) sie entfärbten die roten Blutkörper nicht, bedingten auch keine Schüffnersche Tüpfelung;
4) sie zeigten, wenigstens während des amöboiden Stadiums, keine Pigmententwickelung.

Bei Tertianparasiten von dieser Größe sind meist schon Pigmentkörner sichtbar.

Auf eine fehlerhafte Ausführung bei der Präparation war die Bildung der Parasitenform nicht zurückzuführen, da sonst auch Deformation der betreffenden infizierten roten Blutkörperchen hätte beobachtet werden müssen. Immerhin mußte ich die Deutung dieser Parasitenformen aus den erwähnten Gründen (Mangel von Schizogonie) noch offen lassen. Aus der oben zitierten Notiz geht nur hervor, daß am folgenden Tage auch Halbmonde im Blute sichtbar waren, und daß die endoglobulären Parasiten nach Chinin bald verschwanden. Auffallend war, daß meines Wissens in der englischen Literatur jene Abbildungen noch keinen Kommentar gefunden hatten.

Das sogenannte Plasmodium tenue von Stephens[1]!

Ganz kürzlich beschrieb nun Stephens als „Plasmodium tenue"-Parasiten, die ihm von Kenrick aus Pachmari in den Zentralprovinzen Indiens gesandt waren, die meines Erachtens ganz an die oben beschriebenen Khartoumer Formen erinnerten.

1) Stephens, J. W. W., A new malaria parasite of man. (Ann. of trop. Med. and Parasitol. Vol. 8. 1914. p. 119.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Stephens scheint ebenfalls die Abbildung in dem III. Report des Wellcome Research Institutes entgangen zu sein. Jedenfalls entsprechen seine Abbildungen durchaus den im III. Report des Wellcome Research Institute. Er betont besonders:

1) Die außerordentliche amöboide Beweglichkeit des Plasmaleibes.

2) Die schwache Entwickelung des Protoplasmas, welches nur ganz dünne und zarte Fortsätze aussendet und die fast völlige Abwesenheit der für Perniciosa typischen Ringformen. Bei den dem roten Blutkörper nur angeschmiegten Formen war das Chromatin nicht punkt-, sondern mehr stäbchenartig.

3) Die im Verhältnis zum Volumen des Parasiten besonders starke Entwickelung des Chromatins (cfr. meine obige Beobachtung in Kamerun). Das Chromatin zeigte bei den von Stephens abgebildeten Formen, auch die Form von Balken, Stäbchen, Fäden, gekrümmten Linien, Gabeln oder Flecken. In dem spinnwebartigen Protoplasma waren auch kleine Teile Chromatin, abgesehen von dem Chromatin des eigentlichen Kerns, verstreut. Jedenfalls wäre die starke Entwickelung und die unregelmäßige Verteilung des Chromatins nach Stephens charakteristisch. Leider fehlen noch weitere Angaben über die Schizogonie und die Gametenformen, so daß wir auch hier die definitive Deutung der Parasitenart noch unentschieden lassen müssen. Kein Zweifel, daß die von Stephens abgebildeten, an die Khartoumer Parasiten erinnernden Formen Beachtung verdienen. Immerhin sei doch erwähnt, daß manche der von Stephens abgebildeten Formen, bei denen das kräftig entwickelte Chromatin bandförmig fast den ganzen roten Blutkörper durchsetzt, auch in Westafrika hätten gefunden werden können, daß aber die ganz eigenartige spinnweb förmige Zeichnung des Plasmas in Westafrika bisher stets vermißt wurde. Einen Namen für den Khartoumer Parasiten möchte ich erst vorschlagen, wenn die Schizogonie bekannt ist und aus diesem Grunde auch den von Stephens vorgeschlagenen Namen **„Plasmodium tenue“** noch ablehnen.

Das sogenannte **Plasmodium vivax** var. **minuta** Emin.

Eine weitere interessante Parasitenform wurde kürzlich von Ahmed Emin[1]) beschrieben, als Plasmodium vivax var. minuta (Emin). E. beobachtete unter 40—60 000 Pilgern auf der Insel Camaran im Roten Meer, bei Hodéidah gelegen, bei augenscheinlich Schwerkranken 6mal Parasiten, die im Beginn der Entwicklung durchaus dem Perniciosaparasiten, im Endstadium aber mehr dem gewöhnlichen Tertianparasiten gleichen sollten. Leider war eine fortlaufende Blutuntersuchung bei der Eigenart der lokalen Verhältnisse dort nicht möglich gewesen.

Im Anfangsstadium fiel Emin die große Zahl der multiplen Infektionen auf und die frühzeitige Teilung des Chromatins (auch in Jugendstadien oft 3—4 Körnchen, letztere finden sich aber bekanntlich zuweilen auch bei gewöhnlicher Perniciosa).

Im Beginne der zweiten Hälfte der Entwickelung nahmen die Parasiten nach Emin ungefähr $^1/_3$ des roten Blutkörperchens ein und zeigten im Plasmaleibe einen aufgelockerten Kern und Bildung von einigen sehr feinen Pigmentkörnchen. Charakteristisch sollte ferner sein:

1) Emin, Ahmed, Une variété nouvelle de parasite de Laveran. (Bull. de la Soc. de Path. Exot. T. 7. 1914. p. 385.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1) Aeußerst lebhafte, amöboide Beweglichkeit.

2) Keine Vergrößerung und Entfärbung der infizierten roten Blutkörper.

3) Auftreten von Schüffnerscher Tüpfelung. Die Schüffnerschen Tüpfelchen könnten zuweilen statt Körnchen filamentöse Formen aufweisen.

4) Eintritt der Kernteilung schon, wenn die Parasiten nur die Hälfte der Größe des roten Blutkörperchens erreicht haben oder noch früher.

5) Sichtbarwerden der Sporulation, auch im peripheren Blute, und Bildung von 4—10 Teilkörpern (also weniger als bei den gewöhnlichen Perniciosaparasiten). Im Endstadium der Chromatinteilung wären die Parasiten nicht größer als $^3/_3$ eines roten Blutkörperchens.

6) Auch im Endstadium nur schwache Pigmententwickelung. Das Pigment bliebe bei der Teilung mit dem größeren Teile des Plasmaleibes als Restkörper zurück.

7) Die sexualen Formen, männliche und weibliche, wären rund, und erwachsen, von ca. $^3/_4$-Größe eines roten Blutkörperchens.

Diese Beschreibung mußte meines Erachtens auch sehr an die recht kurze von Mine für den Formosaparasiten gegebene erinnern.

Marchoux war nun so freundlich, mir auf meine Bitte 3 Ausstrichpräparate Ahmed Emins zur Untersuchung zu senden. Ich konnte im ganzen den Befund Emins bestätigen. Im einzelnen sei aber noch folgendes hinzugefügt:

Kennzeichen des Parasiten von Camaran (Plasmodium camaranense).

I. bezügl. Schizonten.

A. Chromatin.

a) Im allgemeinen stärkere Entwickelung des Chromatins schon in den Jugendstadien. Zuweilen erschien es bis um das Doppelte stärker entwickelt als beim gewöhnlichen Perniciosaparasiten.

b) Ungewähnlich häufige Lage des Chromatins innerhalb der Ringform des Plasmaleibes.

c) Sehr häufige und frühzeitige Absplitterung von Chromatinteilchen bzw. Teilung des Kerns in 2—3 Teilstücke. (Auch bei dem gewöhnlichen Plasmodium praecox nicht selten zu beobachten.)

d) Nicht selten stäbchen-, balken-, haken- oder ringförmige Gestalt des Chromatins, dann etwas erinnernd an die Formen von Stephens (Plasmodium tenue). Während der Kernteilung der erwachsenen Parasiten sehr starke Auflockerung des Chromatins, häufige Absplitterungen von Chromatin und zum Teil eine Art staubförmiger Auflösung desselben. Jedenfalls waren oft nicht so deutliche dendritische Verzweigungen wie bei der Chromatinteilung des gewöhnlichen Tertiana- und Quartanaparasiten zu entdecken. Die Kernteilung tritt meist sehr deutllich schon ein, wenn die Parasiten ca. $^1/_4$—$^1/_3$ der roten Blutkörper erreicht und Scheibenform angenommen haben.

B. Plasmaleib.

Nur in den Jugendstadien als Ringform deutlich. Die Zeichnung der Ringe war in diesem Stadium genau so haarscharf wie die der Perniciosaringe. Nach Vollendung des Ringstadiums (cfr. Fig. 18, 21, 24) erscheinen nicht selten phantastische, feine, äußerst zarte, von der Ringform ausgehende, protoplasmatische Ausläufer. Die Färbung des Plasmaleibes wird mit dem zunehmenden Wachstum des Parasiten meist immer zarterderart, daß während der Chromatinteilung manchmal von einer Blau,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

färbung des Plasmaleibes kaum noch die Rede ist. Wenn Blaufärbung sich findet, ist diese im Plasmaleibe öfter ungleichmäßig verteilt, so daß eine Art Vakuolisierung stattfindet. Bei fast 50 Proz. der Parasiten war eine deutliche Kontur des Plasmaleibes bei den erwachsenen Parasiten nicht immer wahrzunehmen. Die maximale Größe der Schizonten entsprach $^2/_3$—$^3/_4$ bis höchstens $^4/_5$ eines roten Blutkörpers.

Nicht selten war eine 2,3-, ja 4-fache Infektion des roten Blutkörperchens vorhanden. Diese ist natürlich nicht als charakteristisch zu bezeichnen, da man sie auch bei gewöhnlichen Perniciosaformen findet.

C. Merozoiten.

Die Merozoitenbildung war in den vorliegenden Präparaten schwerer zu studieren als bei gewöhnlichen Tertiana-, Quartana- und Perniciosaparasiten, da das Chromatin während der Kernteilung in weniger gleichmäßige Bruchstücke zerfällt als bei den bekannten übrigen Parasiten und das Plasma so außerordentlich zart und schwach gefärbt erscheint. Die maximale Zahl der Merozoiten schien, wie aus einem Präparat hervorging, die Zahl 12 nicht zu übersteigen; indes sind, speziell über die Beschaffenheit der Merozoiten noch weitere Beobachtungen an weiterem Material notwendig. Die Zahl der erwachsenen Parasiten mit Kernteilung (ca. $^2/_3$—$^3/_4$ Größe der roten Blutkörperchen) betrug in manchen Gesichtsfeldern ca. $^1/_4$ der Jugendformen. Man kann daher sagen, daß im Gegensatz zu gewöhnlichen Perniciosaparasiten die Kernteilung wie beim Tertianaparasiten schon im peripheren Blute stattfindet.

D. Pigment.

In den jugendlichen und halberwachsenen Formen im allgemeinen äußerst feinkörnig, bräunlich, manchmal fast staubförmig, erst bei Fortschritt der Kernteilung treten ein oder mehrere dunkelbräunliche, fast schwärzliche Pigmentkörnchen auf.

E. Die infizierten roten Blutkörperchen.

Deutliche Schüffnersche Tüpfelung habe ich in keinem Stadium beobachtet. Jedenfalls kann man auf keinen Fall von einer Schüffnerschen Tüpfelung sprechen, wie man sie so außerordentlich deutlich bei Tertianaparasiten, in seltenen Fällen und viel schwächer angedeutet, auch bei starker Romanowsky-Färbung bei Quartanaparasiten beobachten kann. Ich sah wohl zuweilen, scheinbar außerhalb des Plasmaleibes stäubchen-, haken- und strichförmige Bildungen, Fig. 31, 33, 34, die vielleicht von Emin für Schüffnersche Tüpfelung gehalten wurden, eher aber noch an eine Art Maurerscher Fleckung erinnern, z. T. dürfte es sich auch um feine Pigmentkörnchen handeln, die dem in dem betreffenden Falle optisch nicht sichtbaren Teile des Plasmaleibes entsprachen. Der infizierte rote Blutkörper wird, wie Emin schon angab, nicht vergrößert und nicht abgeblaßt. Indes konnte ich während der Mitte und des Endes des eigentlichen Sporulationsstadiums, nachdem der Parasit seine maximale Größe erreicht, doch zunehmende Abblassung feststellen. Richtige Maurersche Fleckung wurde nicht beobachtet.

II. Gameten.

Die maximale Größe der endoglobulären Gameten war, wie schon Emin richtig angibt, $^2/_3$ bzw. $^3/_4$ des roten Blutkörpers. Die allgemeinen Unterschiede der Gameten gegenüber den Schizonten waren auch bei diesen Parasiten deutlich sichtbar. Die Jugendformen waren allerdings nur recht selten im peripheren Blute nachweisbar. Die älteren Formen waren indes durch ihre deutlichere Plasmafärbung, die rundliche Gestalt,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:09 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Nichtteilung des Kernes, das etwas mehr stäbchenförmige, grünliche Pigment von den Schizonten sehr deutlich zu trennen.

Das Chromatin war bei den weiblichen Gameten mehr peripher gelegen, bei den männlichen mehr in der Mitte, der Unterschied zwischen den männlichen Gameten mit himmelblau gefärbtem Plasma und dem viel dunkleren der (sehr viel selteneren) weiblichen Gameten war ins Auge fallend.

Epikrise.

Wir haben also einen Parasiten vor uns, der in der Tat im Jugendstadium außerordentlich an Perniciosaparasiten erinnert und eine starke Proliferationstätigkeit des Chromatins zeigt. Dagegen ist Emins Bemerkung abzuweisen, daß der Parasit während des zweiten Stadiums der Entwickelung mit dem Tertianparasiten Aehnlichkeit hätte. Er ist vom Tertianparasiten scharf zu trennen:

1) Durch Fehlen der Aufblähung und Abblassung der roten Blutkörper;

2) durch Fehlen der Schüffnerschen Tüpfelung;

3) durch geringere Zahl der Merozoiten;

4) durch ganz frühzeitigen Eintritt der Kernteilung.

Gegen Quartanaparasiten spricht während der zweiten Hälfte der Entwickelung schon das Einsetzen der Chromatinteilung noch bevor der Parasit die Hälfte der Größe des roten Blutkörpers erreicht hat, das Fehlen der Bandform.

Gegen gewöhnliche Perniciosaparasiten spricht:

1) Das Auftreten eines feinkörnigen, dunkelbräunlichen, statt klumpigen, schwärzlichen Pigments;

2) Einsetzen der Kernteilung schon im peripheren Blute;

3) das Auftreten sämtlicher Entwickelungsstadien der Gameten schon im peripheren Blute;

4) das völlige Fehlen sämtlicher Halbmondformen, auch bei dem Auftreten der Endentwickelung der Gameten im peripheren Blute.

Ohne die Zusammenfassung aller dieser Momente wäre es durchaus nicht ganz leicht, die älteren Stadien des Parasiten von Quartana- bzw. Perniciosaparasiten zu unterscheiden. Diese Zusammenfassung hat Laveran in der Diskussion über diesen Parasiten in der Soc. de pathol. meines Erachtens außer acht gelassen, als er erklärte, daß es sich hierbei nur um Formen handle, die auch bei den übrigen Parasiten beobachtet worden wären. Das trifft nur für einzelne Erscheinungsformen zu.

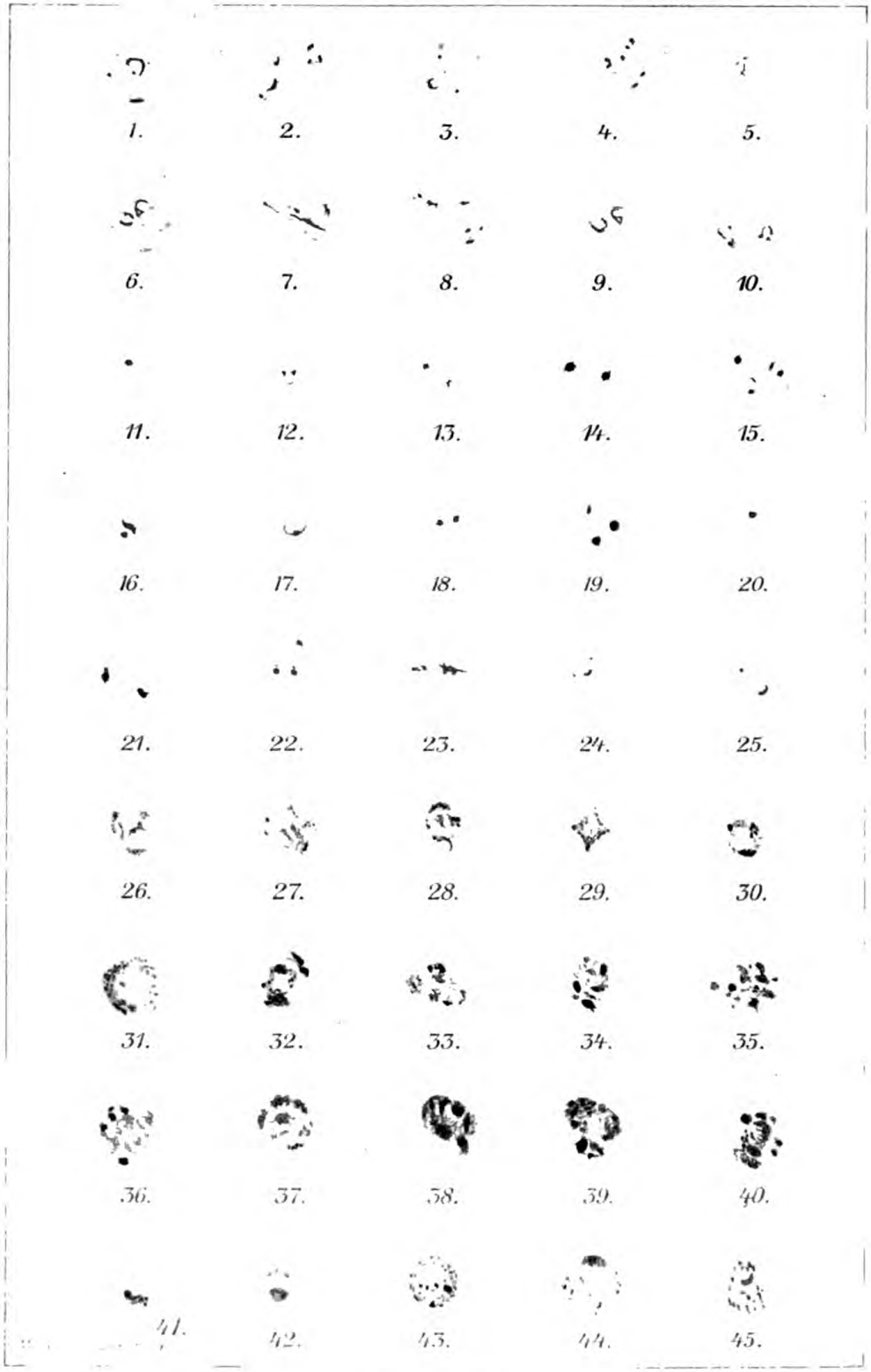
Bekanntlich hatte man ja z. B. auch in Italien, im Gegensatz zu den eigentlich tropischen Gegenden in selteneren Ausnahmefällen, ferner auch in Palästina in agonalen Fällen, das Auftreten von Teilungsformen des Perniciosaparasiten im peripheren Blute beobachtet. Man hätte ferner auch an eine Mischinfektion, z. B. von erwachsenen Quartana- und jungen Perniciosaparasiten denken können, um so mehr, da die Gametenformen auch zum Teil recht an Quartanagameten erinnerten. Indes sind, wie schon erwähnt, die Teilungsformen des vorliegenden Parasiten vom Quartanaparasiten schon wegen der ganz außerordentlich frühzeitigen Chromatinteilung zu trennen. Auch die in den Präparaten sich findenden zahlreichen Uebergangsformen zwischen den einzelnen Entwickelungsstadien sprachen gegen eine Mischinfektion und für einen einheitlichen Parasiten Es kommt noch hinzu, daß Emin denselben Parasiten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN



Gustav Fischer

Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

immerhin in 6 Fällen gefunden haben will, und daß auch die Formosaparasiten Mines sehr an diesen Camaranparasiten zu erinnern scheinen.

Die vorliegenden Daten scheinen uns „möglicherweise" zu berechtigen, eventuell von einem neuen Parasiten zu sprechen. Nur ist der von Ahmed Emin vorgeschlagene Name: „Plasmodium vivax, variéte minuta" absolut unzulässig, da der Parasit während des Jugendstadiums gar nicht, in erwachsenen Stadien nur sehr wenig an den Tertianparasiten erinnert. Jedenfalls hat der Camaranparasit im ganzen mehr Anknüpfungspunkte an den Perniciosaparasiten, trotz der schwächeren Pigmentierung und trotz des Fehlens von Halbmonden. Ich habe ja schon oben mitgeteilt, daß z. B. auch der Kameruner Perniciosaparasit eine schwächere Pigmentierung zeigt als der gewöhnliche Perniciosaparasit und auch bedeutend weniger Neigung zu Halbmondbildung. Ich schlage als vorläufigen Namen **„Plasmodium camaranense** Emin" vor, ohne damit für fest eine neue Parasiten-„Art" bezeichnen zu wollen.

Jedenfalls geben die Mitteilungen von Stephens und Emin eigene Untersuchungen und der Hinweis auf die in Khartoum gefundenen eigenartigen Formen uns einen Ansporn, in den Malariagegenden aufs neue die einzelnen Parasitenformen immer wieder kritisch zu durchmustern und mit den oben beschriebenen Formen zu vergleichen.

Referent wäre außerordentlich dankbar für Uebersendung von Präparaten, deren Einklassifizierung in eine der bisher bekannten Malariaparasitenarten Schwierigkeiten zu bieten scheint und würde die Beurteilung solcher Parasiten dankbarst übernehmen.

Schlußsätze.

Wir haben nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse außer den wohlcharakterisierten Arten des Tertian- und des Quartanparasiten die Gattung der Perniciosaparasiten (Laverania) zu unterscheiden und unter letzteren sicher mehrere Varietäten, meines Erachtens sogar mehrerer Arten, z. B. 1) Plasmodium praecox, 2) Plasmodium perniciosum (cfr. oben).

Ueber die oben im Text näher beschriebenen Khartoumer Parasiten (Plasmodium tenue Stephens), den Camaranparasiten (nach Ahmed Emin Plasmodium vivax var. minuta) und die mit letzteren eventuell identischen Parasiten Mines aus Formosa sind noch weitere Untersuchungen notwendig.

Tafelerklärung.

Vergrößerung 1 : 1000.

Fig. 1—10. Parasiten vom Typ der Khartoumer Parasiten, Plasmodium khartunense (aus Khartun). Synonym Plasmodium tenue Stephens.

Fig. 11—45. Plasmodium camaranense Emin (von der Insel Camaran, Rotes Meer).

Fig. 11—40. Schizonten.

Fig. 41—45. Gameten. 43—44 weibliche, 45 männliche.

Fig. 43—45. Pigment, mehr stäbchenförmig, grünlicher Farbenton.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber die Durchführung von Massenuntersuchungen auf Cholerakeimträger.

[Aus dem Kgl. Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch" Berlin (stellvertr. Direktor: Prof. Dr. Neufeld).]

Von Prof. Dr. **R. Otto,** Abteilungsvorsteher,
Oberstabsarzt der Reserve.

Mit 6 Textfiguren.

Nach dem jetzigen Stande der wissenschaftlichen Choleraforschung hat man gerade bei dieser Seuche mit dem Vorkommen zahlreicher Keimträger, auch bei Schutzgeimpften, zu rechnen. Um der von ihnen ausgehenden Gefahr zu begegnen, ist es zweifellos das Rationellste, zu Epidemiezeiten bakteriologische Massenuntersuchungen in der Umgebung der Cholerakranken auszuführen, um so die Keimträger zu ermitteln und unschädlich zu machen. Derartige Untersuchungen müssen besonders bei der Cholera aussichtsvoll erscheinen, da wir hier im Besitze von Anreicherungsmethoden sind, die uns die Auffindung der Keimträger erleichtern. Allerdings wird die Ausführung solcher Massenuntersuchungen mit den jetzt vorhandenen Einrichtungen der bakteriologischen Institute schwer möglich sein wegen der großen Anforderungen, welche sie an Personal und Material stellen.

Von diesen Erwägungen ausgehend, habe ich versucht, die vorhandenen Einrichtungen so auszubauen, daß auch mit dem den Instituten jetzt zur Verfügung stehenden Personal nach Tausenden zählende Massenuntersuchungen auf Cholerakeimträger durchgeführt werden können.

Das von uns erprobte Verfahren beruht im Prinzip auf den bewährten Methoden der Peptonanreicherung und der Identifizierung der Kulturen durch spezifisches Choleraserum, Methoden, deren man meines Erachtens auch bei Massenuntersuchungen Gesunder nicht entraten kann. Neugestaltet ist die Art der Einsendung der Stuhlproben und die Bebrütung der Kulturen.

Für die Einsendung sind von uns besondere Versandkisten vorgesehen, welche Einsätze für je 100 Versandgefäße enthalten. Die Einsätze können nach dem Eintreffen der gefüllten Kästen im Laboratorium zusammen mit den Versandgefäßen herausgenommen werden, und es kann dann unmittelbar in den Versandgefäßen die Vorkultur mit Peptonlösung zwecks „Anreicherung" der Cholerakeime vorgenommen werden. Auf diese Weise ist die Einsendung der Stuhlproben und die Ausführung der Anreicherung mit Peptonlösung erheblich vereinfacht.

An die Pepton-„Vorkultur" schließt sich die Züchtung auf festen Nährböden, die zur Anstellung der Agglutination erforderlich ist. Auch hier sind wir gerade bei der Cholera in der glücklichen Lage, in dem Blutalkali-Agar einen Nährboden zu besitzen, der uns die Auffindung der Choleravibrionen sehr erleichtert und der zugleich durch seine elektive Wachstumsförderung bzw. -behinderung die Zahl der zu untersuchenden Kolonieen wesentlich einschränkt.

Die Ausführung der spezifischen Agglutination bei Massenuntersuchungen stößt in der Form der sogenannten „orientierenden Agglutination" auf keinerlei Schwierigkeiten. Diese Methode ist von mir selbst schon mehrfach z. B. bei Typhus- und Ruhr-Massenuntersuchungen erfolg-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

reich zur Ermittelung von Bacillenträgern benutzt worden und hat sich dabei stets gut bewährt.

Um aber die nach Tausenden zählenden Züchtungen in Peptonwasser und auf Agar in einem Laboratorium glatt durchführen zu können, genügt das bisherige Züchtungsverfahren in Brutschränken nicht. Hierzu würde eine so große Anzahl von Schränken erforderlich sein, daß deren Beschaffung — besonders in der jetzigen Zeit — nicht möglich sein dürfte. Es ist mir nun gelungen, ein gewöhnliches Institutszimmer durch Heizung mit Gasöfen und mit Hilfe eines neuen, von der Firma F. & M. Lautenschläger, konstruierten Thermoregulators automatisch auf die konstante Temperatur von 37° C zu bringen, so daß das ganze Zimmer als „Brutofen" benutzt werden kann. Auf diese Weise ist es möglich, Tausende von Bakterienkulturen in Röhrchen und auf Platten ohne Schwierigkeit zu züchten. Gleichzeitig bietet ein solches Zimmer Raum genug, um zugleich die bei den Dieudonné-Platten nach dem Gießen erforderliche Erwärmung (wir lassen die Platten 1 Stunde bei 37° C stehen) bei Tausenden von Platten bequem anstellen zu können.

Die Ausführung der Massenuntersuchungen nach der von uns erprobten Methode besteht demnach aus folgenden Hauptphasen:

1) Einsendung der Stuhlproben in den erwähnten Versandkästen (s. Fig. 1);

2) Anlegung der Pepton-Vorkultur unmittelbar in den Versandgefäßen (s. Fig. 2);

3) Bebrütung der Peptonwasser-Vorkulturen (s. Fig. 3) sowie

4) der am folgenden Tage anzulegenden Agarkulturen in dem „Brutzimmer";

5) Ausführung der „orientierenden Agglutination" in der weiter unten näher beschriebenen Form.

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 1. Versandkiste, enthaltend 1 Gestell mit 100 Versandgefäßen.

Fig. 2. Einfüllung des Peptonwassers in die Versandgefäße.

Fig. 3. 3 Gestelle mit je 100 Versandgefäßen im „Brutzimmer".

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Im einzelnen verläuft eine solche Massenuntersuchung auf Cholerakeimträger in folgender Weise:

Dem betreffenden Kreisarzt, Krankenhaus usw. werden die erforderlichen Kästen mit Versandgefäßen zugesandt. Jedem Kasten liegt eine Gebrauchsanweisung (s. Anlage 1) und eine Liste zur Eintragung der Namen der zu untersuchenden Personen bei (s. Anlage 2).

Nach dem Eintreffen der gefüllten Kästen im Laboratorium werden die Gestelle mit den Versandgefäßen herausgenommen und die numerierten Korke gelockert. Sodann erfolgt sogleich die Einfüllung des Peptons in die Versandgefäße.

Wir verfahren dabei in der Weise, daß dieselbe Person mit der einen Hand die gelockerten Korke anhebt und zugleich mit der anderen Hand aus einem (1 oder mehrere Liter fassenden) Gefäß so viel Nährflüssigkeit in jedes Röhrchen fließen läßt, bis dasselbe bis über das Löffelchen mit Peptonwasser (durchschnittlich 10 ccm) gefüllt ist (s. Fig. 2). Die Korke werden nach der Füllung vorsichtig (nicht zu fest) auf das Stuhl und Pepton enthaltende Röhrchen aufgesetzt, wobei gleichzeitig der Inhalt des Löffels an der Gefäßwand möglichst verrieben wird. Bei geeigneter Wahl der Druckhöhe und nicht zu kleiner Oeffnung des gläsernen Ansatzstückes am Schlauch erforderte die Auffüllung von 1000 Röhrchen mit Pepton knapp 2 Stunden. Diese Arbeit ist sehr einfach und läßt sich auch von nicht geübten Personen sehr schnell erlernen.

Nach der Füllung der Versandgefäße mit Pepton werden die Einsatzgestelle, einzeln oder übereinander gestellt (s. Fig. 3), in das Brutzimmer gebracht und verbleiben dort bis zum nächsten Tage (ca. 16—20 Stunden). Wie besondere Versuche uns zeigten, gelingt es in dieser Zeit selbst ganz vereinzelten Cholerakeimen, sich in künstlichen Cholerastühlen so zu vermehren, daß sie bei der am nächsten Tage erfolgenden Aussaat auf Dieudonné-Agar regelmäßig, meist in Reinkultur, nachweisbar waren.

Es empfiehlt sich, schon einige Zeit ($^1/_2$—1 Stunde) vor dem Abimpfen aus den Peptonröhrchen die Korken aus den Versandgefäßen zu entfernen, um ein gleichmäßig schnelles Abimpfen vornehmen zu können.

Beim Anlegen der Abstriche wird das Gestell mit den Versandgefäßen so vor dem Untersucher aufgestellt, daß er die Oberfläche der abzuimpfenden Röhrchen bequem übersehen kann. Beim Ueberimpfen selbst arbeiten, ebenso wie bei der Anstellung der Agglutination, immer 2 Personen Hand in Hand; die eine entnimmt beim Abimpfen mittels Platinöse die Proben aus den Stuhlröhrchen und streicht sie auf der Agarplatte aus, während die zweite dem Impfenden die ausgeglühten Platinösen zureicht, die gebrauchten ihm aus der Hand nimmt und wieder ausglüht. Es sind also, um schnell arbeiten zu können, mindestens 3 Platinösen erforderlich, von denen die eine im Gebrauch ist, die zweite ausgeglüht wird und die dritte zum Erkalten aufgestellt ist. Auf diese Weise können 2 Personen in 2 Stunden 1000 Proben auf 200—1000 Agarplatten aussäen.

Als Nährboden hat sich uns der Blutalkaliagar durchaus bewährt. Statt des Dieudonné- bzw. Pilon-Agars kann man im Notfalle auch stark alkalischen Agar benutzen. Wenn Blutalkaliagar verwandt wird, ist es zweckmäßig, täglich Kontrollplatten von dem für den nächsten Tag in Aussicht genommenen Plattenmaterial mit künstlichem Cholerastuhl zu beimpfen, um zu prüfen, ob der Agar auch brauchbar ist. In allgemeinen legen wir auf jeder Agarplatte 2 Ausstriche an. Im Notfalle können auf eine Platte von gewöhnlicher Größe aber auch noch mehr (bis zu 5) Abstriche von verschiedenen Peptonschichten gemacht werden. Um Irrtümer zu vermeiden, ist aber dringend erforderlich, daß die Platten vor dem Beimpfen mit den Nummern der abzuimpfenden Röhrchen beschrieben werden.

Die beimpfen Platten werden auf einem 500—1000 Platten fassenden Tragbrett gesammelt und in das Brutzimmer gebracht. Am nächsten Tage erfolgt die Nachschau der Platten. In der Regel wird nur ein kleiner Teil von ihnen bewachsen sein. Gesetzt den Fall, daß in 10 Proz. der untersuchten Stühle Kulturen gewachsen sind, so würden bei 1000 Platten 100 orientierende Agglutinationen auszuführen sein. Die Ausführung dieser Untersuchungen erfordert für 2 Personen höchstens 1 Stunde Zeit, wenn in folgender Weise gearbeitet wird:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das benötigte Serum (spezifisches und normales Serum von derselben Tierart) wird je nach dem Titer des spezifischen Serums verdünnt und die Verdünnung in Pravazsche Spritzen aufgesaugt. Aus den Spritzen tropft man das Serum mit feinsten Kanülen in linsengroßen Tropfen auf gereinigte Objektträger oder Kochsche Glasplatten. Neben jeden Tropfen spezifischen Serums, das, um Verwechslungen zu vermeiden, schon vor dem Aufsaugen in die Spritze mit einer Spur Farbstofflösung, z. B. Methylorange, gefärbt ist, wird ein Tropfen ungefärbten Normalserums in 10-facher Konzentration angelegt, also Verdünnnung 1 : 50, wenn die orientierende Agglutination mit der Verdünnung 1 : 500 spezifischen Serums ausgeführt werden soll.

Von dem zu prüfenden Bakterienmaterial entnimmt man mit der Platinnadel eine Spur von der Dieudonné-Platte, verreibt einen Teil des Materials in dem Tropfen „Normalserum" und den Rest in dem Tropfen „spezifisches Serum". Den Verlauf der Agglutination verfolgt man, während auf dem Objektträger Proben der nächsten Kulturen verrieben werden. Wenn in allen Tropfen Kulturmaterial verrieben ist, wird das Resultat der Agglutination mit der Lupe festgestellt (s. Fig. 4).

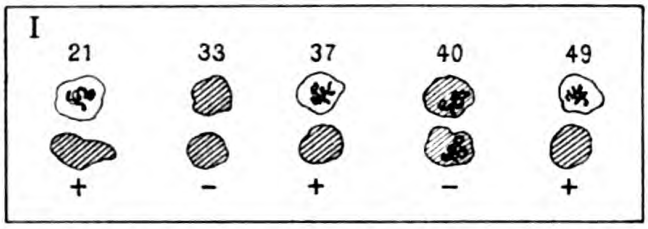


Fig. 4. Objektträger mit „orientierenden Agglutinationsproben".

I. bedeutet Versandkiste I. Die Zahlen *21*, *33*, *37*, *40* und *49* bezeichnen die Nummer der Kulturen, bzw. Versandgefäße. Die obere Reihe enthält 5 Tropfen spezifischen, die untere Reihe die gleiche Anzahl Tropfen normalen Serums. Die Zeichen + und — bedeuten „positiven", bzw. „negativen" Ausfall der Reaktion.

Nach Abschluß der Agglutination erfolgt die (telegraphische) Mitteilung der positiven Befunde an die Einsendungsstelle. Bei zweifelhaftem Ausfall der orientierenden Agglutination werden von der verdächtigen Kultur zum nächsten Tage Reinkulturen angelegt, die mit spezifischem Serum quantitativ ausagglutiniert werden. Nach Abschluß der Untersuchungen wird ein Exemplar der miteingesandten Listen mit dem Untersuchungsergebnis dem Einsender zurückgesandt.

Die Abgabe der bakteriologischen Diagnose geschieht also in der Regel 48 Stunden nach dem Eintreffen der Stuhlproben.

Auf die angegebene Art und Weise lassen sich nach unseren Erfahrungen täglich fortlaufend Tausende von Einsendungen auf Cholerabacillen untersuchen. Mit Unterstützung des Kgl. Ministeriums des Innern hat das hiesige Institut sich vorläufig so eingerichtet, daß mit dem ihm jetzt zur Verfügung stehenden, geringen Personal doch täglich 1000 Untersuchungen fortlaufend erledigt werden können.

Wie aus den folgenden Berechnungen hervorgeht, werden sich sogar Massenuntersuchungen in größtem Umfange auf die beschriebene Weise durchführen lassen, so daß man in der Lage sein dürfte, z. B. auch ganze Truppenteile in kürzester Zeit auf Cholerabacillenträger durchzuuntersuchen, selbst wenn dazu täglich 10000 Stuhlproben in einem Institut verarbeitet werden müßten.

Was zunächst den Zeitaufwand betrifft, so würde in letzterem Falle ein Laboratorium zur Bewältigung der erforderlichen Untersuchungen an Zeit gebrauchen:

I.	für die Oeffnung und Peptonfüllung der eingehenden 10000 Versandgefäße	18 Std.
II.	für die Aussaat der 10000 Vorkulturen vom Tage vorher auf Dieudonné-Platten	20 „
III.	für die Ausführung der orientierenden Agglutination (10 Proz. Wachstum angenommen) bei 1000 Kulturen vom vorvorigen Tage	10 „
	Summa	48 Std.

Bei dieser Berechnung ist vorausgesetzt, daß (wie oben bereits ausgeführt wurde) stets 2 Personen Hand in Hand arbeiten. Diese würden also zur Bewältigung der er-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

forderlichen Arbeiten 48 Stunden gebrauchen. Bei einer 8-stündigen Arbeitszeit wären mithin 6 Untersucher und 6 Hilfskräfte zur Erledigung der Arbeiten erforderlich.

Die Hilfskräfte, denen das Oeffnen der Röhrchen, das Zureichen der ausgeglühten Oesen und Nadeln beim Besäen der Agarplatten und bei der Ausführung der Agglutination zufiele, brauchten keine vorgebildeten Laborantinnen zu sein, da diese Arbeiten von jeder, einigermaßen gewandten Person geleistet werden können.

Auch die 6 Untersucher müßten nicht unbedingt bakteriologisch vorgebildete Aerzte sein, es genügt, wenn dies bei dreien der Fall ist. Die übrigen 3 Personen können geübte Laborantinnen sein.

Außer diesem Personal wird nun allerdings noch eine größere Anzahl Diener benötigt, denen die Herstellung der Nährböden, sowie die Reinigung und Desinfektion der Versandgefäße und Glassachen zufällt. Bei täglich 10 000 Einsendungen werden täglich gebraucht:

100 l Peptonwasserlösung und
50 l Blutalkaliagar[1]) nach Dieudonné oder Pilon, zu dessen Herstellung Ragitagar vorrätig zu halten wäre. Dabei ist angenommen, daß auf jeder Dieudonné-Platte 3 Abstriche angelegt werden.

Außerdem müßten täglich:

10 000 Versandgefäße desinfiziert, gewaschen und versandt,
3 400 Platten desinfiziert, gereinigt und sterilisiert, sowie
200 Objektträger desinfiziert und gereinigt werden.

Um diese Arbeit zu leisten, sind mindestens erforderlich:

3 geübte Laboratoriumsdiener zum Kochen und Ausgießen der Nährböden,
12 Hilfsdiener zum Waschen der Schalen sowie zum Reinigen und Verpacken der Versandgefäße,
3 Laufburschen zur Besorgung von Gängen usw.

Ferner müßten dem Institut zur Erledigung des Briefwechsels und der Listenführung 2 Damen und zur Verwaltung des Materials 1 Beamter zur Verfügung stehen. Mithin wären im ganzen außer dem Leiter 35 Personen erforderlich, um die sichere und gleichmäßige Verarbeitung von 10 000 Einsendungen täglich zu ermöglichen.

Dieser Personenaufwand erscheint vielleicht auf den ersten Blick sehr groß, er ist in der Tat aber ein sehr geringer. Nach einer von mir früher aufgestellten Berechnung würden für die tägliche Verarbeitung von 10 000 Stuhleinsendungen in einem Institut, das nicht über die genannten Einrichtungen verfügt, mindestens 85 Personen erforderlich sein. Das von mir ausgearbeitete und erprobte Verfahren (Einsendung in besonderen Versandkisten, Vorkultur direkt in den Versandgefäßen, Züchtung im Brutzimmer, Identifizierung durch orientierende Agglutination) gestattet also eine erhebliche Ersparnis an Personal.

Natürlich ist für ein Laboratorium, das derartig umfangreiche Untersuchungen für bestimmte Zeit täglich ausführen soll, auch eine nicht unerhebliche Materialausstattung erforderlich. Zunächst müßte ein geeignetes Gebäude mit 2 Schreibzimmern, 3 Untersuchungszimmern mit zusammen 6 Arbeitsplätzen für je 2 Personen, 3 Spülküchen, 3 Kochküchen mit Nebenraum (eventuell Flur) zum Plattengießen, einem Vorratsraum und einem als „Brutzimmer" einzurichtenden Raume vorhanden sein. Weiter wären erforderlich:

500 Versandkästen zu je 100 Versandgefäßen,
20 Kochsche Dampftöpfe,
10 000—20 000 Petrischalen,
50 Drahtkörbe, 100 Schalen fassend,
3 Heißluftschränke, 400 Schalen fassend,
50 Waschbürsten,
100 Glaskolben zu 5 l Inhalt,
50 „ „ 2 l „
50 Kochtöpfe zu 50 l mit Drahteinsätzen,
100 ccm Normalkaninchenserum,
50 „ agglutinierendes Cholerakaninchenserum,
20 Platinösen,
20 Platinnadeln,
Stopfwatte, Tragbretter usw.

Die Desinfektion und Reinigung der Versandgefäße und Glasschalen geschieht bei den Massenuntersuchungen in der Weise, daß alle Gefäße und Schalen sofort nach dem Gebrauch in einen Kübel mit 5-proz. Kresolseifenlösung getan werden.

1) Für die Herstellung von 50 l Blutalkaliagar sind erforderlich: 35 l Agar und 15 l Blutalkalilösung. Mithin werden für jeden Tag 7,5 l Rinderblut benötigt. Die Blutalkalilösung ist lange Zeit haltbar.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Kübel wird zweckmäßig so groß gewählt, daß die Einsatzgefäße mitsamt den Glasgefäßen in die Kresollösung gebracht werden können. Nach 2-stündiger Desinfektion erfolgt dann die Spülung und Reinwaschung der Schalen und Gefäße in heißem Wasser. Die Schalen werden dann noch im Heißluftschrank sterilisiert.

Die Desinfektion der Korke mit den Löffelchen erfolgt gleich bei ihrer Herausnahme aus den Gefäßen in einem Eimer mit 5-proz. Kresolseifenlösung.

Die Objektträger, auf denen die „orientierende Agglutinationsprobe" ausgeführt wird, tut man nach dem Gebrauch in eine Schüssel mit 1-proz. Sublimatlösung.

Zur Einrichtung des „Brutzimmers" sind je nach Größe des Raumes 2—3 Gasöfen erforderlich. Die Abbildung 4 zeigt die Aufstellung eines solchen Gasofens in Verbindung mit einer automatisch

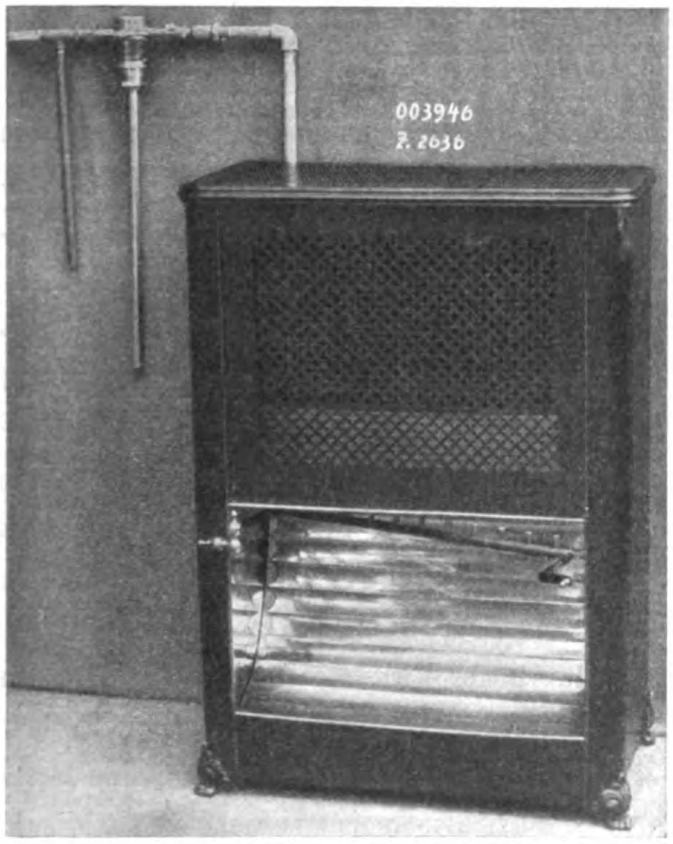


Fig. 5.

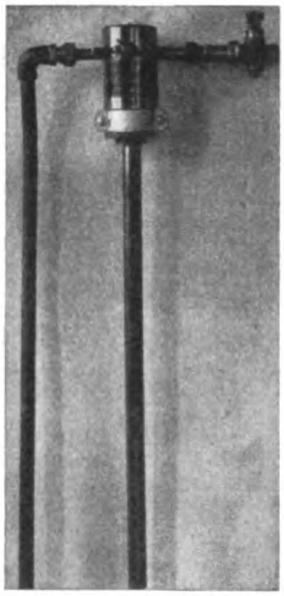


Fig. 6.

Fig. 5. Gasheizofen des Brutzimmers mit angeschlossenem Thermoregulator.
Fig. 6. Thermoregulator für Gasheizöfen.

arbeitenden Reguliervorrichtung (Fig. 5) zur Erreichung der konstanten Temperatur von 37° C.

Als Gasöfen werden Oefen der gebräuchlichen Konstruktion verwendet. In einer Entfernung von ca. 1 m oder an beliebiger Stelle des Raumes wird in die Gasleitung zu dem Ofen der Thermoregulator (Fig. 5) eingebaut. Dieser Regulator, welcher mit einer wärmeempfindlichen Flüssigkeit gefüllt ist, bewirkt durch die Volumveränderung die Betätigung einer Membran, welche wiederum durch einen Mechanismus das Schließen und Oeffnen der Gaszuleitung ermöglicht (Firma F. u. M. Lautenschläger, Berlin).

Mit Hilfe einer einfachen Regulierschraube läßt sich der Apparat auf die verlangte Temperatur genau einstellen. Die Einrichtung des

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Anlage 1.

Kgl. Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“
Berlin N. 39.

Anweisung für die Einsendung von Stuhlproben!

1) Die Namen der zu untersuchenden Personen sind in den beifolgenden Listen einzutragen. Beide Listen sind dem Kasten wieder beizufügen. Die eine erhält der Einsender nach Abschluß der Untersuchung mit dem Untersuchungsergebnis zurück.
2) Nach Fertigstellung der Listen sind die Versandgefäße so zu verteilen, daß jede Person das ihrer Listennummer entsprechende Gefäß erhält.
3) Von der zu untersuchenden Stuhlprobe — die zu diesem Zwecke auf einem Pappteller oder einer Papierunterlage abgesetzt wird — ist mit dem am Korken befestigten Löffelchen nur so viel Material zu entnehmen, als der Löffel gerade faßt! Der gefüllte Löffel wird mit dem Korken in das Versandgefäß vorsichtig eingesetzt. (Es empfiehlt sich, die Probenentnahme von dem Pappteller nicht durch die zu untersuchende Person, sondern durch das Aufsichtspersonal vornehmen zu lassen.)
4) Die mit den Stuhlproben beschickten Versandröhrchen werden sogleich gesammelt, in das in der Versandkiste befindliche Gestell genau der Nummer nach geordnet, eingesetzt und auf schnellstem Wege dem Institut zurückgesandt.

Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Anlage 2.

Versandkasten Nummer: .....
Zur Untersuchung auf: .....

An
das Königliche Institut für Infektionskrankheiten "Robert Koch"
in Berlin N. 39
Föhrerstraße 2.

Ort u. Datum } der Füllung: .....
Absender: .....

Lfd. No.	Stand bzw. Dienstgrad (bei Kindern Vorname)	Name	Befund
	1.	2.	3.
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
.			
.			
.			
.			
.			
97			
98			
99			
100			

Berlin, den 191

Unterschrift des Untersuchers:
.....

NB. Spalte No. 3 ist für die Eintragungen der Untersuchungsstelle offen zu lassen!

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Regulators ist so getroffen, daß die Gasleitung durch den Regulator niemals ganz abgesperrt werden kann, so daß bei Erreichung der Bruttemperatur der Brenner stets mit kleiner Flamme weiterbrennt.

Mit diesen einfachen Mitteln haben wir in dem 180 cbm großen Versuchszimmer des Instituts bei einem vollkommen automatischen Betrieb die Erhaltung einer konstanten Temperatur wochenlang (auch im kalten Monat März) erreichen können, trotzdem das Zimmer auf zwei Seiten freistehende Außenwände hat. Voraussetzung ist, daß die Türen, Fenster und sonstigen Oeffnungen des Zimmers dicht schließen. Für den Abzug der Heizgase ist eine Abzugsklappe anzubringen.

Der Preis eines Thermoregulators beträgt 90 M., der eines Gasofens nach Größe 75—100 M. Mit den Installationskosten wird die Aufstellung jedes Gasofens mit Thermoregulator rund 250—300 M. kosten, so daß man für ungefähr 1000 M. ein vollständiges Brutzimmer von 180 cbm haben kann. Die früher gebauten großen Brutöfen von Zimmerform, welche aber nur 12 cbm Rauminhalt haben, kosten 5—6000 M.

Der Preis einer Versandkiste (von Holz) mit Einsatzgestell und 100 Versandgefäßen stellt sich etwa auf 45—50 M. (Firma F. u. M. Lautenschläger).

Zusammenfassung.

Mit Hilfe des im Voraufgehenden beschriebenen Verfahrens ist es möglich, in jedem Institut ein Laboratorium einzurichten, das die tägliche bakteriologische Untersuchung von Tausenden von Stuhleinsendungen auf Cholerakeime gestattet.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Bail, Oskar, Veränderungen von Bakterien im Tierkörper. XII. Abschwächungsversuche am Milzbrandbacillus bei 42°, p. 330.

Fermi, Claudio, Pouvoir immunisant de la salive et des glandes salivaires rabiques, c'est-à-dire, du virus rabique isolé de la substance nerveuse. II., p. 349.

Frei, Walter, Notiz über die Desinfektionskraft der „Thigans", p. 363.

Hottinger, Rob., Beitrag zur Theorie der Färbung nach Gram, p. 367.

Kraus, R. u. **Loewy, O.**, Ueber Hühnerpest. III. Ueber eine Varietät des Hühnerpestvirus, p. 343.

Otto, R., Ueber die Durchführung von Massenuntersuchungen auf Cholerakeimträger, p. 392.

Pribram, Ernst u. **Pulay, Erwin**, Beiträge zur Systematik der Mikroorganismen. I. Die Gruppe des Bacterium fluorescens, p. 321.

v. Spindler-Engelsen, Anna, Vergleichende Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit verschiedener säurefester Bakterien gegen Antiformin, p. 356.

Ziemann, H., Ueber eigenartige Malariaparasitenformen, p. 384.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 76. Heft 6.
Ausgegeben am 22. Juli 1915.

Nachdruck verboten.

Ueber die Tuberkulose des Hundes.

[Hygienisches Institut der Kgl. Universität zu Modena (Direktor: Prof. Dr. Fr. Sanfelice).]

Vorläufiger Bericht.

Von Dr. **Michele Bertani,** Assistenten.

Nach der Entdeckung des Kochschen Bacillus ist die Tuberkulose beim Hunde von verschiedenen Forschern festgestellt worden. Es handelte sich in allen diesen Fällen um die spontane, d. h. um die direkt aus der Umwelt erworbene Tuberkulose. In der Literatur finden sich keine Fälle von künstlich erzeugter Hundetuberkulose. Es hat dies unter den Pathologen zu der fast allgemein verbreiteten Ansicht geführt, daß der Hund nicht empfänglich ist für künstlich eingeimpfte Tuberkelbacillen.

Es wird angenommen, daß der Hund, wenn er sich in Räumen befindet, in denen mit Lungentuberkulose behaftete Individuen leben, ähnlich wie das beim Menschen der Fall ist, spontan auf dem Wege der Atmungs-, Verdauungs- und Geschlechtsorgane, sowie durch die Haut von der Tuberkulose befallen werden kann.

Zu nicht geringen Bedenken geben die Versuche Anlaß, die Tappeiner im Jahre 1876 angestellt hat und aus denen er den Schluß zieht, daß es ihm wirklich gelungen sei, 11 Hunde zu infizieren, indem er sie in geschlossenen Räumen feinzerstäubte, von tuberkulösen Individuen herrührende Auswürfe einatmen ließ.

Da jedoch bei diesen Untersuchungen der Nachweis der Kochschen Tuberkellbacillen nicht erbracht worden ist, kann auch nicht mit Sicherheit behauptet werden, daß die Schädigungen wirklich tuberkulöser Natur gewesen sind. Nur wenig glaubwürdig sind dann auch die Untersuchungen von Raymond und Haout, die es als möglich hinstellen, daß der Hund durch Wunden und Verletzungen der Haut hindurch von der Tuberkulose infiziert werden könne.

An einer mir vom Städtischen Schlachthause zur Verfügung gestellten Schweinsleber, die eine apfelgroße, eingekapselte, schnittharte, im Innern aus Granulationsgewebe und kleinen, mit Eiter angefüllten Hohlräumen bestehende Geschwulst darbot, welche die Merkmale aktinomykotischen Eiters besaß, habe ich mittels der mikroskopischen Prüfung festzustellen vermocht, daß es sich um eine tuberkulöse Schädigung handelte. Es veranlaßte mich dies, kleine Stücke dieses tuberkulösen Gewebes in die Bauchhöhle eines Hundes einzupflanzen und zu gleicher Zeit nach Herstellung einer dicken, von diesem tuberkulösen Gewebe herrührenden Aufschwemmung Einspritzungen in die Vene eines Kaninchens vorzunehmen, um festzustellen, ob die in der Leber des Schweines vorgefundene tuberkulöse Schädigung dem Bacillus der Rinder- oder der Menschentuberkulose zuzuschreiben war.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Am 25. Tage verendete das Kaninchen im Zustande bedeutender Abmagerung. Bei der Sektion fand ich in der Leber, in den Nieren und der Milz tuberkulöse Schädigungen in Form von miliaren Tuberkelknötchen vor; auch in den Lungen waren tuberkulöse Schädigungen vorhanden.

Bei der mikroskopischen Prüfung der nach dem Ziehl-Gabbetschen Verfahren gefärbten Ausstrichpräparate habe ich das Vorhandensein zahlreicher Tuberkelbacillen in allen vorgenannten Organen und auch im Gehirn und Rückenmark nachzuweisen vermocht.

Der Hund, welcher kleine Stückchen von der tuberkulösen Schädigung des Schweines in die Bauchhöhle eingepflanzt erhalten hatte, war nach ungefähr $2^1/_2$ Monaten etwas abgemagert und zeigte gegen Ende des 3. Monats in der Nähe des Penis ein Knötchen, dessen erweichte Mitte gerade zu schwären begann.

Da demnach eine sekundäre Infektion zu befürchten war, entschloß ich mich, nachdem mehr als 3 Monate seit der Inokulierung verstrichen waren, das Tier zu töten.

Der pathologisch-anatomische Befund war sehr interessant. Die zum Darm gehörenden Lymphdrüsen zeigten sich etwas vergrößert, auf der Höhe des großen Netzes lagerte eine Geschwulst, welche die Größe einer Walnuß besaß, gelblichweiß gefärbt war und sich beim Schnitt derb zeigte; die Milz erschien leicht angeschwollen, die Nieren waren ohne jede Schädigung, die Leber dagegen wies zahllose Miliartuberkel auf; in den Lungen fanden sich etwas größere Tuberkel vor als in der Leber.

In den von allen von Schädigungen betroffenen Organen hergestellten und nach Ziehl-Gabbet gefärbten Ausstrichpräparaten habe ich zahlreiche Tuberkelbacillen angetroffen.

Kleine Stücke der im Omentum vorgefundenen Geschwulst habe ich dann in die Bauchhöhle von Hunden gebracht, die nach der $2^1/_2$ bis 3 Monate später erfolgten Tötung einen dem vorbeschriebenen vollauf gleichenden pathologisch-anatomischen Befund ergeben haben.

Ueber die in den Geweben angetroffenen pathologisch-anatomischen Schädigungen werde ich mich in meiner Hauptarbeit eingehender auslassen.

Auf Grund dieser einleitenden Untersuchungen kann ich somit die Behauptung aufstellen, daß durch Einpflanzung vom Rinde herrührenden tuberkulösen Gewebes beim Hunde eine Infektion hervorgerufen werden kann.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber die Speicheldrüsen bei Lyssa.

[Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Kgl. Universität Palermo. Direktor: Prof. A. Trambusti.]

Von Privatdoz. Dr. **Alexander Amato.**

Mit 1 Tafel.

Die Symptomatologie der Tollwut hat die Aufmerksamkeit hauptsächlich auf die histopathologischen Läsionen des Nervensystems gelenkt, während unsere Kenntnisse über die feinen Alterationen der Organe bei dieser Krankheitsform verhältnismäßig gering sind.

Was die Speicheldrüsen anbelangt, die sich im allgemeinen makroskopisch hyperämisch, strotzend und bisweilen auch ekchymotisch zeigen, so sind die mikroskopischen Veränderungen an ihnen von Bosc, Babes und Jonesco, Elsemberg, Stefanescu, Ménétrier, Podwyssotsky und einigen anderen studiert worden.

Ihre Ergebnisse sind aber nichts weniger als übereinstimmend.

Bosc beschreibt Läsionen, charakterisiert durch eine Proliferation und Hypertrophie der Drüsenzellen, namentlich der Acini, und der Ausführungsgänge; diese Proliferation soll zu adenomatösen Neubildungen führen und mit der bindegewebigen und endoperivaskulären Proliferation wahre Knötchen bilden.

Ménétrier hat nur Spuren von Hyperfunktion in den sekretorischen Blindtaschen gefunden.

Nach Babes und Jonesco variieren die Alterationen stark, nicht nur nach der Intensität, sondern auch nach der Art der Läsionen; unter den Speicheldrüsen soll die Submaxillaris die ausgesprochensten Läsionen aufweisen.

Diese Autoren fanden in gewissen Fällen weder makroskopische, noch mikroskopische Läsionen, einige andere Male dagegen Hyperämie, einhergehend mit Anschwellung der Epithelzellen, die in einer gewissen Menge Fetttröpfchen enthalten; auch die fixen perivaskulären Zellen sollen häufig geschwollen sein und Fetttröpfchen enthalten.

In anderen Fällen endlich beobachteten sie eine lebhafte Proliferation des interstitiellen Gewebes, die mit schwerer Entartung der Drüsenzellen einherging.

Stefanescu traf eine Erweiterung der Ausführungsgänge, ihr Epithel war zuweilen komprimiert oder proliferiert, das Lumen mit einer eiweißartigen Substanz ausgefüllt.

Elsemberg beschreibt eine reichliche Zellproliferation des interstitiellen Gewebes; in der Nachbarschaft der Kapillaren und der Nervenfädchen sollen gewisse Drüsenläppchen eine starke Leukocyteninfiltration aufweisen. Die kleine Körnchen sezernierenden Zellen enthielten häufig mehrere Kerne; die halbmondförmigen Zellen waren hypertrophisch, granulös, während sich die Drüsenacini von ausgewanderten Leukocyten in körnig-gasförmiger Entartung umgeben zeigten.

Diese Läsionen bilden jedoch nach Babes und entgegen der Angabe Elsembergs nicht die Regel, da häufig diese Drüsen nur spärliches embryonales Gewebe längs der erweiterten Gefäße enthalten; das Endothel und die Zellen der Gefäßwände selbst zeigen sich geschwollen und öfters mit Fett infiltriert.

Nach Babes fände sich häufig eine ödematöse Infiltration des interstitiellen Gewebes, mit Proliferation der fixen Zellen, seltener eine Leukocyteninvasion im Drüsengewebe.

In der Submaxillaris eines an Lyssa gestorbenen Kindes verzeichnete Babes eine stark ausgesprochene, embryonäre Infiltration um die Gefäße und Ausführungsgänge, die namentlich durch Fibroblasten, Zellen mit Fortsätzen, Lymphocyten, Polyblasten gegeben war; das Epithel war gut erhalten, die kleinen Nervenganglien wiesen besondere Zeichen der Reizung und Entartung auf.

Podwyssotsky hat in der Submaxillaris toller Hunde Alterationen der sekretorischen Elemente, der Zellen der Ausführungsgänge, des interlobulären Bindegewebes und der Nervenganglien der Drüse selbst angetroffen.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Läsionen des sezernierenden Epithels würden dargestellt durch Eiweiß- und Fettentartung mit sukzessivem Uebergang zur Nekrose; diese Läsionen hätten jedoch keinen diffusen Charakter, sondern zeigten sich herdweise.

Herdförmige Läsionen würden auch im interlobulären Bindegewebe, und zwar vorzugsweise in der Nachbarschaft der befallenen Läppchen, angetroffen.

Wo das Bindegewebe am stärksten alteriert ist, sollen sich Lyssaknötchen, ähnlich denen, die in gewissen Teilen des Nervensystems beobachtet werden, bilden.

Auch in den Nervenganglien der Submaxillaris sollen die in den Cerebrospinalganglien beschriebenen degenerativen und destruktiven Prozesse eintreten.

Im Epithel der Gänge wurde eine charakteristische Anhäufung von feinen Fettgranulationen angetroffen und zwischen Epithel und Membrana propria bildeten sich freie Räume, die feine safraninophile, von einem Zellzerfall herrührende Granulationen einschließen.

Bei mit fixem Virus geimpften Kaninchen fand Podwyssotsky herdförmige Läsionen des Epithels, während Bindegewebe und Nervenganglien sich nicht verändert zeigten.

Pernice traf in der Parotis toller Kaninchen eine leichte Hyperämie; die Drüsenzellen zeigten geschwollenes, mit ziemlich großen, fuchsinophilen Granulis beladenes Protoplasma; Kern tumid und schwach färbbar; andere Male dagegen wies das Protoplasma Vakuolen auf, und der Kern zeigte sich vesikulär und kaum gefärbt. Das Epithel der Ausführungsschläuche zeigte im allgemeinen keine merklichen Veränderungen.

Die Versuche von Hertwig, Galtier, Bardack und anderen, die die Anwesenheit des Tollwutvirus in den Speicheldrüsen nachwiesen, veranlaßten verschiedene Autoren — nach den wichtigen Untersuchungen von Negri — diese Drüsen auf die von diesem Forscher im Nervensystem nachgewiesenen Körper zu untersuchen.

Während jedoch Daddi, Bertarelli, Volpino, Luzzani, Podwyssotsky, Ganslmayer u. a. negative Resultate erzielten, gelang es Stefanescu, in einem Fall beim Hunde im Innern der Drüsenzellen der Parotis den Negrischen analoge Körper nachzuweisen.

Einen ähnlichen Befund soll Babes im Lumen einiger Speicheldrüsen bei Lyssa erhalten haben.

Boucher de la Ville-Jossy hat in den Ausführungsgängen Kügelchen angetroffen, die die Gestalt von Blutkörperchen und grüne Farbe hatten (?).

Meine Untersuchungen sind an Kaninchen angestellt worden, die subdural mit fixem Virus geimpft wurden.

Ich beschränkte mich dabei auf die Parotis und Submaxillaris, die nach den verschiedenartigsten Verfahren der Technik behandelt wurden.

Parotis. Schon mit den gewöhnlichen Methoden ist deutlich eine ziemliche Hyperämie des Organs erkenntlich, die zuweilen mit kleinen Hämorrhagien, besonders in der die Drüse umgebenden Bindegewebsschicht, einhergeht.

Das Bindegewebe scheint vergrößert, die interlobulären Bindegewebssepten zeigen sich breiter.

Diese Volumenzunahme des Bindegewebes erscheint aber nicht an irritative oder proliferative Erscheinungen gebunden, denn es zeigt sich meist blaß gefärbt und mit spärlichen Kernen.

Bei stärkerer Vergrößerung zeigen sich die Bindegewebsbündel fast wie voneinander losgelöst, indem sie Lücken von verschiedener Form und Größe zwischen sich lassen.

Kurz, es bietet sich das Bild einer starken ödematösen Infiltration des Bindegewebes.

Nur an einigen kleinen Punkten besteht eine beschränkte celluläre Infiltration, die durch kleine embryonale Zellen gebildet wird.

Das Deckepithel der Ausführungsgänge zeigt sich im allgemeinen gut erhalten, und nur manchmal wird seine Ablösung und sein Fallen in das Lumen des Schlauches beobachtet.

An den nach dem Weigertschen Verfahren zum Nachweis der elastischen Fasern gefärbten Präparaten erscheinen diese und namentlich

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die inmitten des ödematös infiltrierten Bindegewebes liegenden schlecht färbbar und zu kleinen, gewundenen Fragmenten reduziert.

Die das Drüsenparenchym bildenden Elemente erscheinen recht oft geschwollen und in jener regressiven Metamorphose begriffen, die unter dem Namen trübe Schwellung geht.

Ziemlich häufig werden sodann Elemente angetroffen, deren Protoplasma mit verschieden großen Vakuolen in äußerst variabler Anzahl infarciert ist; hierauf aber werden wir weiter unten bei Besprechung der Modifikationen der sekretorischen Vorgänge noch näher eingehen.

Der im allgemeinen gut erhaltene Kern zeigt sich bisweilen pyknotisch oder in Karyorhexis begriffen.

Nie habe ich die Anwesenheit von Osmiumsäure reduzierenden Fettstoffen im Drüsenparenchym der in Osmiummischungen (Pianese, Hermann, Flemming) fixierten Stücke verzeichnet.

Was die cytologischen Vorgänge der Sekretion anbelangt, so habe ich nicht nur eine starke Steigerung in der Bildung der Granulationen sehen können, sondern diese erscheinen auch viel größer als die, die normalerweise angetroffen werden.

Auf diese Phase der Hypersekretion der Zellstoffwechselprodukte, die sich durch Bildung von großen Granulationen oder von Tröpfchen im Innern der Zelle bemerkbar machen, folgt eine allmähliche Verminderung in der Bildung dieser Produkte, die in Form von immer kleineren und spärlicheren Granulationen erscheinen, während das Zellelement sich mit zahlreichen Vakuolen beladet, bis man schließlich zu jenen, bereits von Zardo beschriebenen Bildern gelangt, die von ihm als eine enorme Produktion flüssigen Materials aufgefaßt wurden, so daß sich am Ende die Zellen enorm vakuolisiert und mit Wasser vollgesogen zeigen (Zellhydrops).

Dies sind die Veränderungen, die fast konstant bei meinen mit fixem Virus geimpften Kaninchen angetroffen werden.

In einem Falle habe ich sodann im Innern der Zellelemente einige besondere Bildungen wahrgenommen, auf die ich bei Besprechung der Alterationen der Submaxillaris näher eingehen werde, weil sich dort diese Bildungen zahlreicher zeigen und ich ihren Ursprung besser verfolgen konnte.

In einem anderen Falle habe ich eine vollständige Strukturveränderung eines Drüsenläppchens antreffen können.

Es erschien in einen großen, lakunären Raum verwandelt, der unregelmäßig von mit Gefäßen versehenen Bindegewebssepten durchzogen wurde; die so entstehenden Räume zeigten sich von einer enormen Menge kleiner, mononukleärer Leukocyten, untermischt mit Phagocyten und roten Blutkörperchen, eingenommen.

Inmitten dieser Elemente waren, obwohl in schweren Entartungsprozessen begriffen, an einigen Stellen noch Elemente des Drüsenparenchyms erkennbar, die ein feinkörniges und zuweilen auch ein in Auflösung begriffenes Protoplasma aufwiesen, so daß sich die Zellkonturen nicht mehr deutlich erkennen ließen; die Kerne waren hell, vesikulär, schlecht färbbar, und enthielten zuweilen auch 3 oder 4 große, an der Peripherie des Kernes angeordnete Chromatinklumpen.

Der Destruktionsprozeß der eigenen Elemente des Drüsenparenchyms ist an anderen Punkten desselben Läppchens bedeutend stärker und es bleiben nur durch Eosin gefärbte Detritushaufen sichtbar, inmitten deren große, vesikuläre, schlecht gefärbte und deformierte Kerne gesehen werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Submaxillaris. Bis auf die beschriebene radikale Strukturveränderung eines Läppchens der Parotis, die von mir nur in einem einzigen Fall beobachtet wurde, läßt sich sagen, daß die von mir angetroffenen Läsionen der Unterkieferdrüse fast die gleichen — vielleicht auch ein wenig schwerer — wie die bereits an der Parotis beschriebenen sind.

Auch hier zeigt das Bindegewebe jene bereits bei der Parotis beschriebene, ödematöse Infiltration, und nur selten habe ich an einigen Stellen eine spärliche Bindegewebsproliferation sehen können.

Auch die in den interlobulären Septen verlaufenden elastischen Fasern weisen die bei der Parotis beschriebenen Alterationen auf.

Auch was die Modifikationen der cytologischen Vorgänge der Sekretion und die degenerativen Prozesse anbelangt, die sich in den eigentlichen Elementen des Drüsenparenchyms abspielen, so kann ich — zur Vermeidung unnützer Wiederholungen — nur auf die oben gegebene Schilderung verweisen, bemerken möchte ich nur, daß die Entartungserscheinungen hier verhältnismäßig eine größere Anzahl von Zellelementen befallen haben.

Auch das Deckepithel der Ausführungsgänge der Submaxillaris erscheint zuweilen, häufiger jedoch als bei der Parotis, abgelöst und in das Lumen des Tubulus gefallen.

In der Submaxillaris habe ich ebenfalls keine osmiumreduzierenden Fettstoffe im Drüsenparenchym der in Osmiummischungen fixierten Stücke gefunden.

Nichts wahrhaft Bemerkenswertes traf ich in den zahlreichen Nervenganglien, die in der Drüse zerstreut liegen.

Wie bereits angedeutet, habe ich bei einem meiner mit Tollwutvirus geimpften Kaninchen sowohl in der Parotis wie in der Submaxillaris, und zwar ganz besonders im Innern der Zellelemente, zuweilen aber auch außerhalb derselben, nämlich im Lumen der Acini oder in den aus der Zerstörung einiger Zellelemente entstehenden Hohlräumen, einige besondere Bildungen nachweisen können.

Es handelt sich um rundliche, ovale, oder auch unregelmäßig dreieckige Körper, die im allgemeinen die Protoplasmafarben stärker als das umgebende Cytoplasma annehmen, oft auch in einer kleinen Vakuole liegen und in ihrem Innern zuweilen Granula in verschiedener Anzahl und Anordnung, andere Male eine oder mehrere Vakuolen und noch andere Male endlich Granula und Vakuolen zusammen enthalten, dabei ein ganz verschiedenartiges Aussehen annehmend.

Zu bemerken ist noch, daß einige dieser Körper sich nach der Mannschen Färbung rot färben.

Zusammenfassend bestehen also die Alterationen, die fast konstant bei meinen mit fixem Virus geimpften Kaninchen angetroffen werden, in Hyperämie, einhergehend mit einigen kleinen Hämorrhagieen, besonders in dem die Drüse umgebenden Bindegewebe, ödematöser Infiltration des Bindegewebes, destruktiven Läsionen der elastischen Fasern, Ablösen und Fallen des Deckepithels der Ausführungsgänge in das Lumen des Tubulus, degenerativen Vorgängen zu Lasten der eigentlichen Elemente des Drüsenparenchyms.

Vor Schluß der vorliegenden Mitteilung dürfte es jedoch von Nutzen sein, auf die in den cytologischen Vorgängen der Sekretion angetroffenen Veränderungen und die Natur und Bildungsweise jener

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Körper etwas näher einzugehen, die durch ihre Morphologie und ihr Verhalten gegen einige Färbungsmethoden einige Berührungspunkte mit den von Negri im Nervensystem der wutkranken Tiere nachgewiesenen Körpern bieten.

Was die cytologischen Erscheinungen der Sekretion bei den wutkranken Tieren anbelangt, so sind meines Wissens die einzigen darüber vorliegenden Untersuchungen die von Zardo.

Dieser Autor fand eine progressive Steigerung der Produktion des flüssigen Materials, so daß die Zellen schließlich enorm vakuolisiert und mit Wasser vollgesogen erscheinen (Zellhydrops), während die granuläre Sekretion bis zum Auftreten der klinischen Symptome der Tollwut allmählich abnimmt und sich nach deren Einsetzen wiederherstellt.

Meine Befunde bestätigen allerdings die von Zardo beobachteten Erscheinungen nicht vollständig.

Wahr ist es freilich, und auch ich habe es sehen können, daß im Epithel der Speicheldrüsen der wutkranken Tiere eine enorme Produktion von Vakuolen angetroffen wird, wodurch das Cytoplasma fast ein hydropisches Aussehen annimmt.

Diese Bildung tritt aber bei meinen Kaninchen nach einer lebhaften granulären Hypersekretion ein, die sich nicht nur durch eine außerordentliche Produktion von Granulis erkennbar macht, sondern wobei diese auch größere Dimensionen als in den normalen Fällen erreichen.

Auf diese enorme Bildung von großen Granulis folgt dann eine Phase, in der die sich bildenden Granulationen, obwohl sie recht zahlreich sind, von bedeutend geringeren Dimensionen erscheinen, während das Cytoplasma anfängt, sich mit Vakuolen zu beladen, die sich schließlich beträchtlich vermehren und den Zellen jenes von Zardo beschriebene, hydropische Aussehen verleihen, während sich nur ganz seltene und kleine Granula im Innern des Zellelementes zeigen.

Und in dieser Hinsicht scheint es mir von Interesse, hervorzuheben, daß bei meinen mit Tollwutvirus behandelten Tieren die cytologischen Erscheinungen der Sekretion stark denjenigen angenähert werden können, die von anderen Autoren, namentlich von Galeotti, in den Zellen beobachtet worden sind, die nach Pilokarpininjektionen Enzyme erzeugen, und dies wahrscheinlich durch eine Reizwirkung, die das Tollwutvirus — ähnlich wie das Pilokarpin — auf die sekretorischen Nerven ausüben dürfte.

Was endlich die Natur und die Bildungsweise jener speziellen Körper von verschiedenartiger Größe und Struktur angeht, die sich zuweilen nach dem Mannschen Verfahren rot färben und so morphologisch und tinktoriell Analogieen mit den Negrischen Körpern aufweisen, und die ich bei einem meiner Kaninchen habe antreffen können, so glaube ich, daß sie als Gebilde aufzufassen sind, die von einem Komplex degenerativer und sekretorischer Vorgänge des Drüsenepithels abhängig sind.

In der Tat habe ich im Cytoplasma einiger Elemente und an verschiedenen Punkten derselben eine Protoplasmaveränderung verzeichnen können, die wahrscheinlich auf einem anderen Aggregationszustand der Eiweißmoleküle beruht, der sich morphologisch fast als eine Verdichtung des Cytoplasmas bemerkbar macht, so daß sich daraus Bilder von verschiedener Form, bald rundlich, bald oval, bald unregelmäßig dreieckig etc., ergeben, die, wenn auch etwas stärker, die Cytoplasmafärbungen annehmen (*a—s*, Fig. 1 u. 7).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nicht selten jedoch entstehen diese Gebilde — in den Elementen, in denen die Produkte der Sekretionstätigkeit sichtbar sind — in der Nähe einer oder mehrerer Granulationen, indem sie diese einschließen, und man bekommt dann verschiedenartige Bilder, wie die in Fig. 2, 4, 5 dargestellten.

Nun möchte es aus der Beobachtung einiger Bilder (Fig. 3 u. 8) scheinen, daß die Sekretionsprodukte, die in diese Gebilde eingeschlossen werden, Erscheinungen des Zerfalls oder der Auflösung anheimfallen.

Das kleine Körperchen, das sich in dem in Fig. 8 abgebildeten Zellelement befindet, zeigt in der Tat einen intensiv veilchenblau (wie die Sekretionsprodukte) gefärbten zentralen Teil, der in dem Maße, wie man sich seiner Peripherie nähert, allmählich in Rosa übergeht und von einer Auflösung des Zentralkörperchens herzurühren scheint, die in einem der Gebilde der Fig. 4 beobachtet wird.

Andere Male dagegen hat es den Anschein, als ob ein Zerfall des in den fraglichen Gebilden eingeschlossenen Produktes sekretorischer Natur eintrete (Fig. 3) und die resultierenden Fragmente sich verschieden anordneten, indem sie diesen intracellulären Gebilden ein verschiedenes Aussehen verleihen, wie es in Fig. 9 u. 10 abgebildet ist.

Weiterhin scheint es, daß manchmal in diesen Körpern regressive Metamorphosen eintreten, namentlich die Vakuolisierung.

Und diese Tatssche, bisweilen im Verein mit der verschiedenartigen Anordnung der auf dem Zerfall der Produkte sekretorischer Natur beruhenden Fragmente, lassen die in Rede stehenden Gebilde ein ganz verschiedenes Aussehen annehmen, wodurch sie in einigen Fällen morphologisch Aehnlichkeit mit den Negrischen Körpern bekommen.

Diese Körper scheinen also auf Grund meiner Befunde, wie bereits oben erwähnt, auf einem Komplex von degenerativen und sekretorischen Erscheinungen zu beruhen.

Ich habe bereits angedeutet, daß einige dieser Gebilde, und zwar sind es besonders diejenigen, die das in Fig. 8, 9, 10, 13 abgebildete Aussehen darbieten, nach dem Mannschen Verfahren eine rote Färbung annehmen, wodurch sie den von Negri im Nervensystem wutkranker Tiere beschriebenen Körpern immer näher gerückt werden.

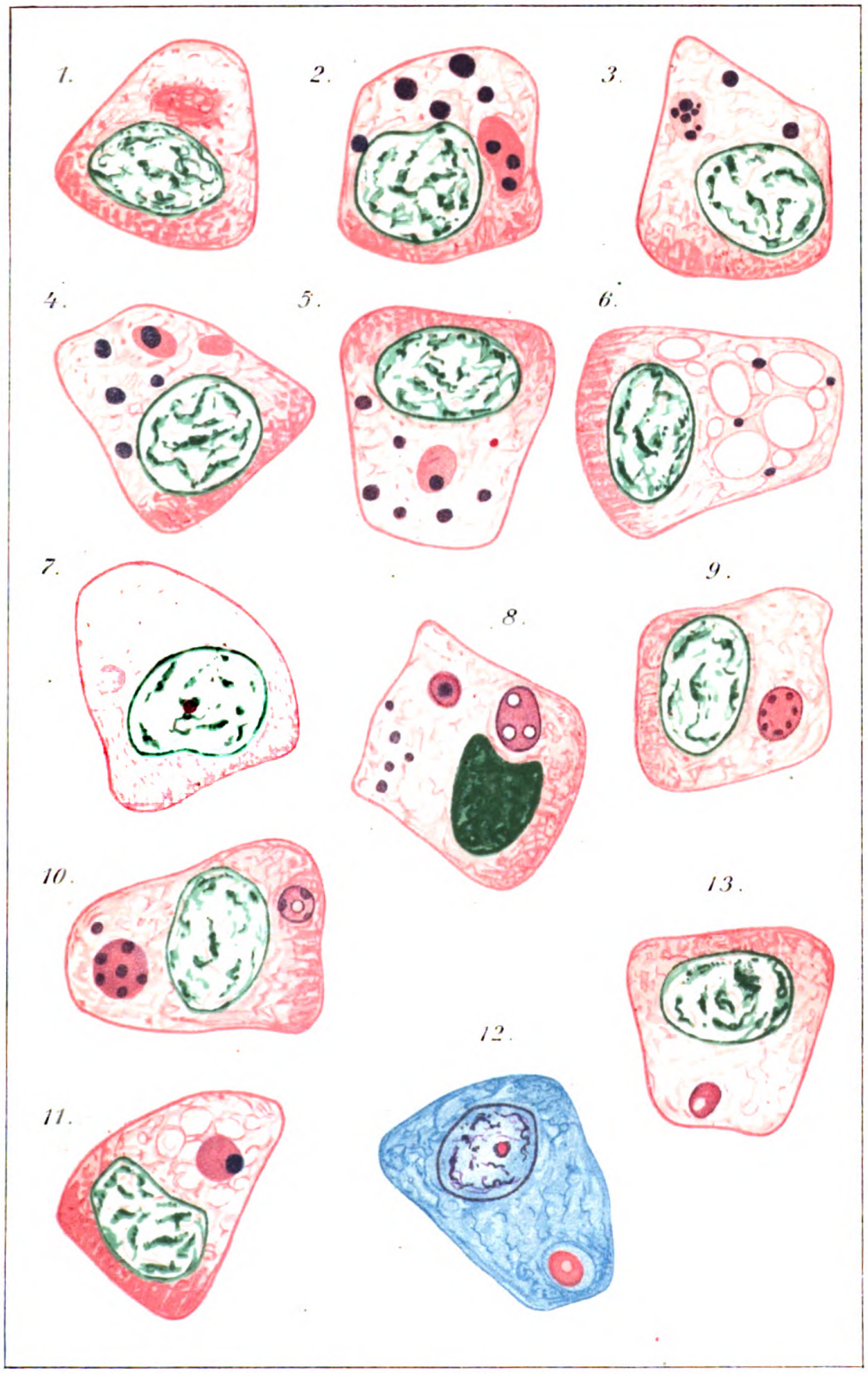
Fig. 12 zeigt in der Tat deutlich ein Körperchen, analog dem durch Fuchsin gefärbten in Fig. 13, das nach der Mannschen Methode eine rote Färbung angenommen hat.

Doch kann meiner Ansicht nach dieses Verhalten gegen die Mannsche Färbung die degenerative Natur der fraglichen Körper nicht erschüttern, da sich bekanntlich nach dieser Methode auch einige in regressiven Metamorphosen begriffene Zellteile rot färben.

Von Manouelian ist in der Tat bei Meerschweinchen, Kaninchen und Ratten im Residualkörper, d. h. in dem bei der Umwandlung der Spermatiden in Spermatozoen nicht verwerteten Zellteil, der offenbar degenerativen Vorgängen anheimfällt, die Anwesenheit von kleine Körperchen enthaltenden Kügelchen und von feinen Körperchen nachgewiesen worden, die namentlich nach Mann die Reaktion der Negrischen Körper aufweisen.

Hier will ich jedoch nicht verfehlen, zu bemerken, daß ich damit nicht beabsichtige, in die Diskussion über die parasitäre oder nichtparasitäre Natur der Körper einzutreten, die Negri in dem Nervensystem der wutkranken Tiere beschrieben hat, da ich es für sehr ge-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. J. [illegible] Jena

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

wagt — wenn nicht für falsch — halte, die an sezernierenden Zellen erhaltenen Resultate auf das Nervensystem ausdehnen zu wollen. Andererseits aber glaube ich, die parasitäre Natur der den Negrischen analogen Körper, die neuerdings von einigen Autoren in den Speicheldrüsen wutkranker Tiere angetroffen worden sind, stark anzweifeln zu dürfen.

Nachtrag. Vorliegende Untersuchungen, die bereits Ende September 1913 abgeschlossen wurden, kommen aus Gründen, die nichts mit meinem Willen zu tun haben, erst jetzt zur Veröffentlichung.

In der Zwischenzeit ist in den Annales de l'Institut Pasteur. T. 28 eine Arbeit von Manouelian über die Speicheldrüsen der Hunde im Verlauf der Straßenwut erschienen.

Dieser Autor hat die Anwesenheit von Negrischen Körpern im Cytoplasma der Nervenzellen der intraglandulären Ganglien sowie tiefgehende Alterationen der Zellen der Drüsenacini und die Anwesenheit von Körperchen leukocytären Ursprungs und von Drüsenzellenresten beobachten können, die sich nach Mann rot färbten und eine gewisse Aehnlichkeit mit den Negrischen Körpern aufwiesen.

Die Resultate Manouelians an Hunden mit Straßenwut stimmen, wenn man von dem Befund der Negrischen Körper in den Nervenzellen der intraglandulären Ganglien absieht, im allgemeinen mit den oben beschriebenen Ergebnissen überein, die von mir an Kaninchen mit fixem Virus erhalten wurden.

Literatur.

Bosc, Compt. rend. Soc. de Biol. 1913.
Babes, Traité de la rage. Paris 1912.
Babes et Jonesco, Compt. rend. Soc. de Biol. 1909.
Elsemberg, Centralbl. f. med. Wissensch. 1881.
Ménétrier, Lehrbuch der Medizin und Therapie von Brouardel et Gilbert.
Podwyssotsky, Arch. de Soc. de Biol. T. 13.
Boucher de la Ville-Jossy, zit. bei Ménétrier.
Zardo, Lo Sperimentale. 1900.
Manouelian, Compt. rend. Ac. Scienc. 1908; Ann. Pasteur. T. 26.
Stefanescu, Compt. rend. Soc. de Biol. 1907.
Bertarelli, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 37. 1904.
Ganslmayer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54.
Pernice, Arch. Anat. pat. e Scienze aff. 1909.

Nachdruck verboten.

Ueber Bakterien im Kälberdarm.

Von Dr. med. vet. **H. Küthe,** Kreisveterinärarzt in Alzey, Hessen.

Mit 10 Textfiguren.

Ueber die Anwesenheit von Bakterien im Darme der Tiere, insbesondere junger Tiere, findet man in der Literatur nur wenige Aufzeichnungen. Es ist das schon um deshalb zu verwundern, weil doch die Verhältnisse bei Tieren bei weitem günstiger liegen als bei Menschen, da man hier leichter systematische Untersuchungen des gesamten Darmtraktus und seiner einzelnen Abschnitte sowohl bei gesunden als auch bei kranken Tieren vornehmen kann, um durch diese Ergebnisse wiederum leichter Rückschlüsse auf die Verhältnisse im

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Säuglingsdarm ziehen zu können. Es mag teilweise wohl darin seinen Grund haben, weil namhafte Forscher, wie Escherich und Moro, behaupteten, daß in bezug auf den Reichtum der Bakterienarten sich Säuglinge und Tiere unterscheiden.

Escherich beschreibt 1894 Spirillen, die er aus dem Darminhalt an Diarrhöe gestorbener Kätzchen gefunden haben will, ähnlich den Spirillen, die ein fast regelmäßiger Befund in diarrhöischen Stühlen von Säuglingen darstellen. Im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 30 veröffentlichte Rahner bakteriologische Mitteilungen über die Darmbakterien der Hühner. Er wollte feststellen, welche Bakterienarten zuerst auftreten und welche im ausgewachsenen Huhn ständig vorkommen, ferner das quantitative Gegenseitigkeitsverhältnis einmal in den Dejektionen, dann in den verschiedenen Darmabschnitten.

Bei eben ausgebrüteten Hühnchen fand er am Ende des 2. Tages Bacillen der Coli-Gruppe, vom 4. bis 5. Tage ab auch sporentragende grampositive Stäbchen und Kokken. Nach 8 Tagen war der Bakterienbefund identisch dem bei ausgewachsenen Hühnern (nach Korn erst in 3 Wochen).

Bei ausgewachsenen Hühnern stellte er in der Hauptsache ein B. coli gallinarum fest. Der Versuch, dessen isolierte Arten mit Rücksicht auf das Vermögen der quantitativen Gasbildung zu trennen, brachte keine Aufklärung. Daneben wuchsen konstant grampositive Kokken in verschiedener Gestaltung, seltener der Micrococcus candicans und der B. mesentericus (Flügge) fuscus. Daneben züchtete er noch das B. megatherium (De Bary), dessen Vorkommen wohl durch den Genuß von Kohlblättern zu erklären ist. Ferner fand er den B. fluorescens und einen die Gelatine verflüssigenden und gelb färbenden Bacillus, auch einzelne Hefe- und Schimmelpilze. Anaërobe Bakterien kommen nach seiner Ansicht anscheinend im Hühnerdarm nicht vor. Als Darmbakterien kommen demnach in Betracht: obligat nur das B. coli, alle übrigen Arten fakultativ, können, mit Nahrung und Atmung aufgenommen, wohl vorübergehend ersteres überwuchern, treten aber bald wieder zurück.

Joest hat 1904 beim Suchen nach der Ursache einer seuchenhaften Hühnerkrankheit neben dem B. coli, das im Dünndarm selten, im Dickdarm dagegen vorherrschend ist, sowie Kokken und Bakterien aus der Gruppe des Heubacillus ein nichtpathogenes kurzes, plumpes, an den Enden abgerundetes B. intestinale gallinarum isoliert. Es soll auf Agar kleine, tautropfenartige Kolonieen bilden ohne Struktur und ohne Geruch, die mehr in der Tiefe kleiner und linsenförmig werden. Das Bakterium wächst auch bei schwachem Säurezusatz sehr üppig, aber ohne Vergärung unter Gasbildung in 1-proz. Traubenzuckerbouillon. In Lackmusmolke bewirkt es ganz schwache Rötung, die Gelatine wird nicht verflüssigt. Die Nitroso-Indolreaktion ist negativ.

Mereskowsky fand 1906, daß bei kleinen Hündchen während der Fütterung mit Muttermilch die Anzahl der grampositiven und der gramnegativen Arten in den Faeces annähernd gleich sind. Aehnlich soll es sich verhalten bei Fütterung von steriler Kuhmilch. Er wirft hierbei die Frage auf, ob die acidophilen Bakterien nicht im Darm normalerweise Schutzbakterien sind, ob sie aber auf der anderen Seite nicht in größeren Mengen alle anderen Bakterien verdrängen und für den Darm selbst schließlich pathogen sein könnten.

Horowitz fand im ganzen Dünndarm der Hunde Coli-Bakterien, im unteren Teil des Dünndarms eiweißspaltende und fäulniserregende Bacillen, die offenbar an Stelle der abnehmenden Verdauungssäfte den weiteren Eiweißabbau besorgen.

Heinick hat im Schweinedarm regelmäßig Coli und Aërogenes, fast immer auch den Staphylococcus pyogenes aureus, hier und da Mesentericus, Subtilis, Megatherium, Proteus-Arten, Sarcinen, Streptotricheen, Hefezellen und Schimmelpilze gefunden. Seine Aussaat hat er allerdings nur auf Gelatine gemacht, seine wenigen Untersuchungen nach Anaërobiern hatten negativen Erfolg.

Piorkowsky und Jess beschreiben ausführlich ein seuchenartiges Pferdesterben und beschuldigen als Ursache das B. coli, das nach ihrer Ansicht bei Diarrhöen der Haustiere, bei akuten eitrigen Peritonitiden, bei Cystitis der Hunde, bei Mastitis purulenta des Rindes und bei Pyelonephritis des Rindes gefunden wird. Nicht dagegen soll das Vorkommen von Coli-Bakterien bei Pferden erwiesen sein und gerade aus letzterem Grunde glauben sie sich erklären zu müssen, daß das B. coli in dem beschriebenen Falle so pathogen war.

Untersuchungen über die Bakterien im Darm des Rindes liegen nur spärlich vor. Ankersmith stellte 1906 fest, daß beim Milchkalb die Keimzahlen im Labmagen bedeutend höher sind als beim Rinde, besonders bedingt durch das Auftreten der säureliebenden Stäbchen, die offenbar mit einem Teil der als acidophil bekannten Arten identisch seien. Im Dünndarm erleidet die Bakterienzahl eine Einschränkung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dagegen findet im Mastdarm und wahrscheinlich auch im Blinddarm des Kalbes normalerweise starke Bakterienvermehrung statt, an welcher die Säurebildner (nicht gasbildend) den Hauptanteil nehmen, während die Vertreter der Coli-Gruppe eine untergeordnete Rolle spielen. Er unterscheidet auch obligate und fakultative Magendarmbakterien, zu ersteren rechnet er das B. Güntheri (hauptsächlich im Pansen), sowie die Bakterien der Coli-Gruppe, unter die anderen zählt er die Kokken, die sporenbildenden und nicht peptonisierenden Erdbakterien, sowie die anaëroben, meist sporentragenden Fäulnisbakterien. Gelegentlich fand er im Blinddarm eines Kalbes einen anaëroben, nicht sporenbildenden Spaltpilz, das B. clostridiiforme.

Neubauer stellte fest, daß die Anaërobier im Dünndarm der Rinder selten, häufiger dagegen im Dickdarm vorkommen.

Baer nimmt an, daß verschiedene colibacilläre Infektionen der Kälber, wie z. B. Polyarthritis, ihren Ausgangspunkt vom Darmkanal aus nehmen können.

1907 stellte Neumann vergleichende Versuche an über verschiedene Stämme der Kälberruhrerreger, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll. Er benutzte dazu die gebräuchlichen Nährböden und Vergärung zahlreicher Zuckerarten (Kochsalzlösung, 1-proz. Pepton und $^1/_{10}$-proz. Zuckerart). Im Gegensatz zu Jensen erscheint es ihm fraglich, ob durch die Verschiedenartigkeit der Gärung Differenzierungen vorgenommen werden können. Nach seiner Ansicht vermögen die Agglutinationsversuche Poels Auffassung von der Spezifität der Coli-Kälberruhrerreger nicht genügend zu stützen.

Jensen führt verschiedene Fälle von Tierkrankheiten an, in denen besonders das B. coli in Reinkultur oder mit anderen Bakterien gemischt gefunden wurde, so bei der infektiösen Kälberdiarrhöe und den Diarrhöen anderer Haustiere.

Eigene Untersuchungen.

Bei den Literaturstudien, die ich über den Stand der Forschung, betreffend Bakterien im Säuglingsdarm, unternahm, fiel vor allem auf, daß systematische Untersuchungen der einzelnen Darmabschnitte in größeren Serien fehlten. Freilich ist das Material hierfür insbesondere bei gesunden Säuglingen kaum in dieser gewünschten Form zu beschaffen, aber auch aus den Veröffentlichungen über Bakterien in Tierdärmen konnte Brauchbares hierfür eigentlich kaum entnommen werden.

Viele Autoren beschränkten sich auf rein bakterioskopische oder doch kulturelle Durchforschung des Kotes, andere wieder auf bakterioskopische Studien des Inhalts einzelner Darmabschnitte.

So entschloß ich mich, an Hand des mir reichlich zur Verfügung stehenden Materials im Schlachthof zu Mainz serienweise Untersuchungen der einzelnen Abschnitte des Verdauungstraktus vom Magen bis zum Rectum vorzunehmen sowohl bei gesunden Kälbern als auch bei krankhaft veränderten Därmen. Dabei wurden vor allem möglichst junge Saugkälber für diese Zwecke unmittelbar nach der Schlachtung ausgewählt.

Die Arbeit erstreckte sich darauf, den Darm in seinen 6 Abschnitten (Duodenum, Jejunum, Ileum, Coecum, Colon, Rectum) zu durchforschen. Daneben konnte auch in vielen Fällen der Magen hinzugenommen werden. Der Inhalt eines jeden dieser 6—7 Abschnitte wurde einer eingehenden Untersuchung unterzogen. Berücksichtigt wurde hierbei:

1) Aussehen und Beschaffenheit des Darmrohres,
2) Reaktion und Beschaffenheit des Darminhaltes,
3) Wachstum in aërober Agarplattenkultur bei 37°,
4) anaërobes Wachstum in hochgeschichtetem Traubenzuckeragar,
5) Uebertragung in Essigsäurebouillon mit folgender
   a) Züchtung auf aërober Agarplatte,
   b) anaërober Kultur in hoher Schicht,
6) das direkte bakterioskopische Bild im Deckglasausstrich aus dem Inhalt der einzelnen Abschnitte.

Der Gang dieser Untersuchungen war ungefähr der:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aus der Mitte eines jeden Darmabschnittes wurde eine Platinöse voll Inhalt unter aseptischen Kautelen genommen und in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung im Reagensröhrchen verteilt. Aus dieser Verdünnung wurde angelegt je eine aërobe Plattenkultur in Petrischalen und je eine anaërobe Kultur in hoher Schicht. Eine zweite Oese voll Darminhalt wurde in ca. 2 ccm einer Traubenzuckerbouillon, der $^1/_2$ Proz. Essigsäure zugesetzt war, verteilt. Diese Anlagen wurden in den Brutschrank bei 37° gebracht. Sodann fertigten wir aus jedem Abschnitte ein Deckglaspräparat an, um es nach Gram zu färben, und prüften den Darminhalt noch auf seine Reaktion und sonstige Beschaffenheit. Nach ca. 24 Stunden wurde aus jedem Essigsäurebouillonröhrchen je eine Agarplatte gegossen und in der Regel auch eine Anaërobenkultur angelegt. Von der Verwendung der Gelatine bei der Anlage sahen wir ab, da sie bei Temperaturen von 37° doch nicht zu verwenden ist.

Neben mancherlei Vorstudien, die zum Einarbeiten in diese Materie notwendig waren, sind 20 ziemlich abgerundete Versuchsreihen vorhanden, die zum Teil weiter hinten näher angeführt sind.

Im großen und ganzen genommen sollten dabei folgende Fragen geklärt werden:

1) Welche Bakterien finden sich in den einzelnen Abschnitten gesunder Kälberdärme,
2) welche Lebewesen in sichtlich kranken Verdauungsorganen,
3) welche Eigenschaften, kulturell und physiologisch, können den so gezüchteten Bakterien zugesprochen werden?

Beim Durchlesen der Literatur, die im Eingang dieser Arbeit objektiv nebeneinander angeführt ist, fiel das oft verschiedenartige Ergebnis der einzelnen Forschungen auf, insbesondere in bezug auf die sogenannten acidophilen Bakterien. Da werden hauptsächlich 2 Arten gegenübergestellt, der B. acidophilus und der B. bifidus communis. Vom ersteren behauptet z. B. Cahn, daß er ihn besonders im Kuhmilchstuhl, Moro, fast ausschließlich im Brustmilchstuhl gefunden habe, während nach Rodella in dieser Beziehung kein Unterschied zwischen Ernährung mit Frauenmilch und mit Kuhmilch vorhanden sein soll.

Den B. bifidus kennt Rodella zunächst nicht. Nach Moro dagegen ist er fast in Reinkultur vorhanden, Cahn findet ihn auch reichlich, aber anscheinend immer in Mischkolonieen mit Acidophilus oder Kokken (Symbiose).

Ebensolche Unklarheit herrscht über die Form der einzelnen Kolonieen. Nach Cahn sind die Kolonieen des Bifidus stets glattrandig, nach Moro ist der Rand glatt oder leicht eingekerbt, das Zentrum etwas dunkler. Hier und da an der Peripherie finden sich büschelförmige Auswüchse aus einem zarten Gewirr von Fäden, diese letzteren aber sollen nach Cahn meist Mischkolonieen mit Acidophilus darstellen; Reinkulturen der letzteren jedoch sollen gezackten Rand haben oder in 3 oder mehr in verschiedenen Ebenen durcheinander gestellten Flächen bzw. in Kugeln mit zarten und langen Ausläufern wachsen.

Aber auch in bezug auf die Gestalt gehen die Meinungen über die beiden Bakterienarten auseinander. Manche Formen des B. acidophilus, wie ihn Rodella beschreibt, ähneln sehr denen des Bifidus Tissier und Moro. Cahn glaubt, in dem Acidophilus eine Gruppe ähnlicher Arten mit großem Pleomorphismus vor sich zu haben, während

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Moro und Tissier für ihren Bifidus eine gleiche Vielgestaltigkeit der Formen in Anspruch nehmen. Ebenso ist noch nicht geklärt, ob der B. acidophilus wahre Verzweigungen bildet, ob er in die Klasse der Actinomyceten zu rechnen ist oder nicht.

Ueber die Anwesenheit anaërober Buttersäurebacillen herrschen ebenfalls verschiedene Ansichten. Während einige nicht danach gesucht, andere sie nicht fanden, wollen Passini und Rodella aus fast jedem Säuglingsstuhl solche gezüchtet haben.

Um dies vorwegzunehmen, es konnten aus jedem Kälberdarm Bakterien der Coli-Gruppe und Formen des B. bifidus (Moro) gezüchtet werden, in vielen Fällen auch solche, die als B. acidophilus beschrieben werden.

Daneben fanden sich konstant Bakterien, die der Gruppe des B. mesentericus (Flügge) bzw. des Subtilis zuzurechnen sind. Gerade das regelmäßige Vorhandensein dieser letzteren Mikroben erschwerte die Untersuchungen in hohem Grade, da sie sowohl in gewöhnlichem Plattenausguß als auch acidophil wachsen. Ihre Kolonieen breiten sich auf der Oberfläche und dicht darunter sehr schnell aus, überwuchern so leicht die ganze Fläche oder durchsetzen die Platte, häufig erweisen sie sich als Mischkolonieen mit acidophilen grampositiven Stäbchen. In diesem Falle haben die flächenhaften dicken Beläge feuchtglänzende schmierige Beschaffenheit und gezackte bzw. gewellte Ränder.

Im allgemeinen konnten aus der Mesentericus-Gruppe 3 Arten unterschieden werden:

Bacillus B I stellt sehr resistente grampositive, bipolar gefärbte ovale Stäbchen bzw. Scheibchen dar mit lichtbrechender Mitte (Sporen). Vereinzelt finden sich Kurzstäbchen darunter mit zugespitzten Enden, allein oder als Diplobacillen, seltener in Kettenform; Beweglichkeit konnte nicht festgestellt werden. Auf der Oberfläche der Nährböden bilden sich grauweiße, mattglänzende, trockene Kolonieen mit welligen Rändern, die in dem Nährboden selbst sehr milzbrandähnlich oder in runden Herden mit strahligen Rändern wachsen. Sie gedeihen nur aërob oder dicht unter der Oberfläche. Im Agarstich wachsen sie bis zur Hälfte des Kanals in seitlichen Streifen und bilden auf der Oberschicht eine faltige Haut. Auf Bouillon entsteht eine dicke, zusammenhängende Masse, während die Flüssigkeit selbst klar bleibt, ebenso auf eiweißfreiem Nährboden. Sie wachsen in alkalischen und sauren Medien. Gelatine wird im ganzen verflüssigt, mit Traubenzucker bilden sie kein Gas. Milch wird in 12—14 Stunden zu schleimiger Gerinnung gebracht, Lackmusmolke gerötet, Neutralrotagar bleibt unverändert. Auf Serum und Kartoffel entsteht ein dicker faltiger Belag. Die Indolreaktion fiel negativ aus, dagegen konnte leichte Ammoniakbildung festgestellt werden. Wiederholte Uebertragungsversuche auf weiße Mäuse hatten keinen Erfolg.

Eine andere Art, Bacillus B II, bildet auf der Oberfläche mattglänzende, weiße, trockene, krümlige Kolonieen, die bei 40-facher Vergrößerung faltig sind und gewellten Rand haben, unter der Oberfläche aber runde kuppelartige Gebilde darstellen mit dichtem Zentrum, das oft bis an die Oberfläche emporragt; das Zentrum ist verästelt, dunkelbraun, umgeben von einem helleren, gezackten Saum. Im Ausstrich finden sich längere, dickere, grampositive Stäbchen, einzeln oder zu zweien aneinandergereiht, teilweise mit lichtbrechenden Sporen in der Mitte des Bakterienleibes.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die dritte Art, Bacillus B III, stellt kürzere, gedrungene Stäbchen mit abgerundeten Enden dar, oft sporentragend und meistens einzeln, seltener als Diplobacillen. Auf der Agarplatte bilden die Kolonieen dünne, grauweiße, schmierige Beläge, dicht unter der Oberfläche eine transparente Schicht. Während die B II-Bacillen wie B I auf der Bouillon eine Kahmhaut bilden, die Flüssigkeit selbst klar lassen, bildet B III ebenfalls eine Haut, trübt aber die Bouillon im ganzen.

Auch die beiden letzteren Arten, in ihren Formen ähnlich, verflüssigen die Gelatine, bringen Milch zur schleimigen Gerinnung und röten Lackmusmolke, in Traubenzuckerbouillon wachsen sie ohne Gasbildung, auf Neutralrotagar haben sie keinen Einfluß, die Indolreaktion ist negativ, ebenso der Tierversuch, Schwefelwasserstoffbildung konnte nicht nachgewiesen werden, dagegen scheinen in älteren Kulturröhrchen Ammoniakspuren vorhanden zu sein.

Alle diese 3 Arten gleichen den in der Literatur beschriebenen B. mesentericus (Flügge) bzw. B. subtilis und haben sicherlich noch mehr Unterarten, die kaum voneinander zu unterscheiden sind. Sie sind acidophil, d. h. sie wachsen auch in essigsaurer Bouillon und lassen sich in 24 Stunden von hier auf alkalische Böden leicht weiterzüchten.

Aus der Essigsäurebouillon ist manchmal eine Bakterienform = Bacillus C I aërob gediehen, die fast nur lange dünne Ketten bildet, deren Glieder abgerundete Enden besitzen und meist in der Mitte eingeschnürt sind, viel seltener sind die Stäbchen einzeln oder zu zweien im Gesichtsfelde zu finden, manchmal wachsen sie zu langen dünnen Fäden aus. Sie sind grampositiv. Ihre tautropfenähnlichen Kolonieen auf der Agaroberfläche sehen bei 40-facher Vergrößerung Milzbrandkolonieen ähnlich. Gerade so wachsen sie auf Schrägagar. Ueberträgt man von da in hohe Traubenzuckeragarschicht, dann bilden sich bei 37° innerhalb 24 Stunden in dieser bis auf ungefähr 1 cm unter der Oberfläche unzählig viele kleinste Pünktchen, die bei 40-facher Vergrößerung glatten oder leicht gezähnelten Rand besitzen. Sind die Kolonieen nicht zu dicht, so werden sie größer und nehmen die Form eckiger Kugeln oder Wattebäuschchen an oder bestehen aus einem dunklen Punkt mit netzartig lichter Peripherie, sehr häufig jedoch haben sie ein dunkelbraunes wurzelförmiges Aussehen. Einigemal wuchsen sie in Form ineinander gewachsener Scheiben. Die Einzelscheiben sind glattrandig, an einer Stelle eingekerbt, dunkelbraun und haben in der Regel im Zentrum eine kleine spitze Erhöhung.

Im Ausstrich aus diesen anaëroben Kolonieen erscheinen die Bacillen viel dicker; gleiche Kettenbildungen wie aus aëroben Kulturen sind nicht mehr zu finden, entweder machen die einzelnen Glieder den Eindruck dicker Scheiben, oder es sind plumpe Stäbchen mit zugespitzten Enden aneinandergereiht; daneben liegen die Bacillen einzeln oder zu zweien, dann meist in Winkelform. Oft findet sich ein langes, dickes Stäbchen, dem ein kürzeres wie ein Kopf aufsitzt, oder die Bacillen haben Kommaform oder bilden lange gerade oder geschlängelte Fäden verschiedener Stärke. Viele Gebilde haben kolbige Auftreibungen in der Mitte oder an einem Ende (dann Köpfchenform), dort ist die Färbung stärker. Chromatinanhäufung besteht auch oft in Form von Punkten an verschiedenen Stellen, während die anderen Teile ungefärbt erscheinen, manchmal finden sich sogar leere Hüllen. Auch im direkten Deckglasausstrich aus dem Darminhalt lassen sich ähnliche Gebilde erkennen. Im Ausstrich aus älteren Kulturen fanden sich immer Bakterien, welche

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Gramfärbung schlecht oder gar nicht mehr zeigten. Ich stehe nicht an, viele dieser mannigfachen Formen des einen Bacillus im Gegensatz zu Moro u. a. als Erscheinungen einer schnell einsetzenden Involution aufzufassen. Nur einmal konnte hier Spaltung der Enden, jedoch niemals Y-Form festgestellt werden.

Rückübertragungen auf aëroben Schrägagar fielen in der Regel positiv aus, die Kolonieen hatten dann wieder tautropfenähnliches grauweißes Aussehen, die Bacillen selbst traten wieder mehr in Ketten auf, aber nicht mehr in den schönen schlanken Formen der primären Anlage, waren vielmehr dicker und unregelmäßiger, bildeten öfters lange Fäden verschiedener Dicke, wie auch die einzelnen oder Diplobacillen mehr den Gebilden aus der anaëroben Kultur glichen.

Rückübertragungen von hier in anaërobe Züchtungen zeigten wieder die kleinen und kleinsten Pünktchenkolonieen.

Eine Weiterzüchtung in aërober Platte brachte seltener oberflächliche Kolonieen, meist nur tiefliegende, kleinste, dunkle, wurzelförmige Punkte. Das war auch die Form, in der gewöhnlich bei der ersten Anlage sowohl direkt als auch aus saurer Bouillon heraus bei aëroben und anaëroben Kulturversuchen unser Bacillus wuchs, daneben fanden sich kleine, glatte, dunkle, anaërobe Scheibchen mit eingekerbtem Rand, nur ausnahmsweise aërobe Kolonieen.

Der Bacillus bringt Milch in 24 Stunden zur labartigen Gerinnung und rötet Lackmusmolke in dieser Zeit. In eiweißfreier Nährflüssigkeit konnte ebenso wie in Gelatine sichtbares Wachstum nicht beobachtet werden, ebenso war ein Gedeihen auf Serum fraglich. Neutralrotagar wurde nicht verändert, die Indolreaktion war negativ. Die Bouillon wurde besonders in der geschlossenen Röhre eines Gärungskölbchens ohne Gasbildung im ganzen getrübt, wobei sich nach ungefähr 2 Tagen ein wolkiger Bodensatz bildete. Die durchgängige Trübung der Bouillon in Verbindung mit den Untersuchungen in hängenden Tropfen lassen die Annahme berechtigt erscheinen, daß dieser Bacillus insbesondere in seinen kurzen Einzelformen geringe Eigenbeweglichkeit hat. Trotz wiederholter Uebertragung auf weiße Mäuse konnten irgendwelche pathogene Eigenschaften nicht festgestellt werden.

Die Umzüchtung von aëroben auf anaërobe Medien und umgekehrt habe ich wiederholt in längeren Reihen durchgeführt. Einige anaërobe Kulturen, die ihrer Gestaltung und der Form der Bakterien nach in den ersten Zeiten meiner Untersuchungen als Bifidus-Reinkolonien angesehen und einige Wochen aufbewahrt wurden, zeigten, auf Schrägagar übertragen, aërobes Wachstum, wie es umgekehrt auch möglich war, aus ca. 3 Wochen alten aëroben Kulturen wieder anaërobes Wachstum zu erzielen, so daß wohl von Mischkolonieen zwischen aëroben und streng anaëroben Bakterien keine Rede mehr sein konnte.

So gleichen die Formen dieses Bacillus teils denen, die in der Literatur für den Acidophilus in Anspruch genommen werden, teils oder meist auch dem Vielerlei des B. bifidus (Tissier, Moro). Im Laufe der Untersuchungen mußte sich in mir allmählich die Ueberzeugung bestärken, daß wir in den als Bifidus und als Formen des Acidophilus (Rodella) seither getrennt beschriebenen Arten einen einzigen Bacillus vor uns haben, der sich allerdings durch großen Pleomorphismus auszeichnet. Anders kann man sich nicht erklären, daß die beliebig lange wechselseitige Weiterzüchtung von aëroben und anaëroben Kulturen diese mannigfachen Gestaltungen der Kolonieen und

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bakterien hervorzurufen imstande ist. Bestärkt wird diese Auffassung durch die Untersuchungen Cahns, welcher offenbar ähnliche Beobachtungen gemacht hat und sich diese so zu erklären suchte, daß er immer „Mischkolonieen" annahm, bei deren Weiterzüchtung aber in der Regel nur der Acidophilus wachsen sollte; dabei glaubte er an Symbiose und bezweifelte, daß die Kulturen von Tissiers B. bifidus communis rein gewesen seien. Eine wirklich einwandsfreie Reinkultur des sogenannten streng anaëroben B. bifidus scheint eigentlich niemand gezüchtet zu haben.

„Das aber findet seine Lösung in der Annahme, daß wir im Bifidus und verschiedenen Formen, die seither dem Acidophilus zugeschrieben waren, ein und dasselbe Bakterium vor uns haben, das sowohl anaërob als auch fakultativ aërob wächst, und das hier mit dem Namen B. acidophilus polymorphus belegt werden soll."

Somit läßt sich ferner die Frage lösen, wie der Bifidus in den Körper eindringe, nachdem der sogenannte Acidophilus in der Milch nachgewiesen worden ist. Wir konnten in fast jeder Kuhmilch und fast jedem Magen diese Formen ergründen. Danach dürfte sich die Annahme, daß die Haupteingangspforte für den Bifidus der After sei (Moro), von selbst erledigen.

Oefters fanden sich in den Präparaten aus kleinen, weißen, anaëroben, glattrandigen Scheiben oder kleinen, weißlichen Pünktchen sehr feine, zarte Stäbchen und Ketten oder lange, dünne Fäden = Bacillus C II. Die Einzelstäbchen waren oft diphtherieähnlich, manchmal spiralig, meist gerade. Dazwischen lagen vereinzelt dickere Gestalten, die dem oben beschriebenen C I-Bacillus entsprachen. Wahre Verzweigungen wurden an den Fäden nie beobachtet. Ob diese Bacillen, die ja den Beschreibungen des Acidophilus am meisten entsprechen, selbständig sind oder nur auf Grund bestimmter Vegetationsverhältnisse diese Formen annehmen, diese Frage konnte nicht endgültig gelöst werden. Jedenfalls entstanden immer bei der Weiterzüchtung wieder Gebilde, die sich mehr unserem C I-Bacillus näherten. Die Lebensäußerungen aber waren bei beiden die gleichen.

Eine andere, aus acidophiler und aus alkalischer Bouillon wachsende anaërobe Kolonie hatte platte Kugelform mit dichterem Zentrum und hellerer, strahlig-zackiger Peripherie. Auch bei anaërober Weiterzüchtung in Traubenzuckerbouillon und fernerer Uebertragung in Agar (hohe Schicht) hatten die Kolonieen immer wieder diese ausgesprochene Gestaltung. Versuche einer aëroben Kultur auf Schrägagar mißlangen.

Die Bakterien aus diesen Kolonieen = Bacillus C III waren grampositiv, hatten Stäbchenform verschiedener Größe, meist kräftige, schlanke, leicht gekrümmte Gestalt (dann ungefähr 5mal so lang wie dick); manchmal waren sie kürzer oder Diplobacillen, noch seltener in kurzen Ketten aneinandergereiht, die Enden waren abgerundet. Die Färbung war stets einheitlich intensiv. In Bouillon waren die einzelnen Bacillen schlanker als in Agar. Bei der Züchtung in Traubenzuckeragar waren die obersten 2 cm frei, in Traubenzuckerbouillon trübte sich der geschlossene Schenkel des Gärungsröhrchens, das mit einem in alkalischer Pyrogallollösung getränkten Wattepfropf und Paraffin abgeschlossen war, einheitlich. Dabei bildete sich ein wandständiger, grauweißer, krümliger Bodensatz. Gasbildung war nicht vorhanden. Milch war in 24 Stunden (anaërob) schleimig geronnen, Lackmusmolke gerötet; die Indolreaktion

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fiel negativ aus, dagegen konnte geringe Ammoniakbildung, jedoch kein Schwefelwasserstoff nachgewiesen werden. Mäuse reagierten nicht auf die Impfung.

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 1. B. acidophilus polymorphus (Bouillon).
„ 2. Derselbe (anaërobe Kultur, angelegt aus aërober Kolonie).
„ 3. Derselbe (Bouillon).
„ 4. Derselbe (anaërobe Kultur, angelegt aus aërober Kolonie, ca. 3 Wochen alt).

Wenn auch manchmal eine gewisse Aehnlichkeit der Formen und biologischen Eigenschaften mit unserem B. acidophilus polymorphus bestand, so wird man doch dieses Bakterium von letzterem trennen müssen, da es sich insbesondere durch das auch in der Weiter-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

züchtung stets gleich bleibende Aussehen seiner Kolonieen, die konstante Form, die einheitliche Färbung und den negativen Ausfall aërober Züchtungsversuche von ersterem wesentlich unterscheidet. Trotzdem haben die

Fig. 5.

Fig. 6.

Fig. 7.

Fig. 8.

Fig. 5. Ebenso wie Fig. 4.
„ 6. B. acidophilus polymorphus (aërobes Wachstum, aus anaërober, 20 Tage alter Kultur übertragen).
„ 7. Derselbe (anaërobes Wachstum, aus Bouillonkultur angelegt, 10 Tage alt).
„ 8. Derselbe (aus 12 Tage alter anaërober Kultur, die aus 4 Tage alter aërober Kolonie angelegt war).

3 jetzt angeführten acidophilen Bakterienarten so viel Wesensgleichheit, daß sie in einer Gruppe als säureliebende Milchkotbakterien zusammenzuschließen sind.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kokken. Sowohl aus gewöhnlicher als auch aus essigsaurer Bouillon konnten aërob und anaërob wachsende Kokken in ihren verschiedenen Gestaltungen gewonnen werden, die in der Form ihrer Kolonieen leicht mit unseren acidophilen Bakterien zu verwechseln waren.

Interessant ist die Tatsache, daß fast alle aus Essigsäurebouillon weiterzüchtbaren Kokken und Stäbchen grampositiv waren, so daß offenbar eine Wechselbeziehung zwischen Alkoholfestigkeit und der Eigenschaft, in sauren Medien zu wachsen, bestehen muß.

B. coli commune. Aus fast allen Kulturanlagen wuchsen Bakterien der Coli-Gruppe. Dabei gingen sowohl opake, scharf umschriebene, dicke, weiße, runde Kolonieen auf, als auch mattglänzende, transparente Beläge bzw. in der Tiefe glattrandige, scheibenförmige oder wetzsteinähnliche Gebilde. Unter den 10 Stämmen, die hier isoliert und

Fig. 9.

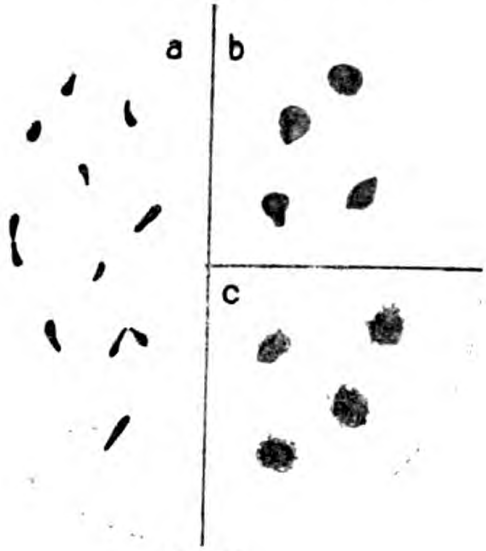


Fig. 10.

Fig. 9. C III (11 Tage alte anaërobe Bouillonkultur, die aus anaërober Kolonie angelegt war). a Bakterien, b Kolonie.
„ 10. B VII = Köpfchenbakterium, aërob. a Bakterium, b oberflächliche, c tiefer gelegene Kolonie.

näher untersucht wurden, fanden sich gewisse Unterschiede, sowohl in bezug auf Aussehen und Beweglichkeit als auch Stärke der Gasbildung in Traubenzuckernährböden, Einwirkung auf Neutralrotagar und Lackmusmolke, Schnelligkeit der Milchgerinnung und Intensität der Indolreaktion. Alle Mäuse, die mit Coli-Kulturen subkutan geimpft wurden, starben in 2—3 Tagen.

Eingehendere serologische und biologische Studien konnten aus Mangel an Zeit mit Coli-Stämmen nicht gemacht werden.

Der eigenartige Befund eines Bacillus = B VII muß hier noch erwähnt werden. Ein einziges Mal wuchs auf der aus essigsaurer Bouillon angelegten Agarplatte ein transparenter dünner Belag. Der Ausstrich ergab kurze, kräftige, grampositive Stäbchen mit abgerundeten Enden, von welchen das eine in der Mehrzahl der Fälle in Köpfchenform verdickt war. Oft war dann das andere Ende etwas verjüngt. Auf Schrägagar wuchs es als transparenter Belag, im Agarstich ebenso wie

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

im Neutralrotagarstich in Form eines leicht faltigen Häutchens auf der Oberfläche, der ganze Stichkanal aber blieb bis auf $^1/_2$ cm unter der Oberfläche frei. Gelatine wurde langsam verflüssigt, Bouillon einheitlich getrübt, Traubenzucker nicht vergoren. Milch war in 48 Stunden nicht geronnen, Lackmusmolke blieb blau, dagegen fiel die Indolreaktion positiv aus. Eine mit Reinkultur geimpfte Maus starb nach 36 Stunden unter komatösen Erscheinungen, doch konnten im Blut und Organen (Ausstrich) die Bakterien nicht mehr nachgewiesen werden.

Ausgüsse auf Agarplatten gaben folgendes Bild: Es entstand ein einheitlicher transparenter Belag, bei 40-facher Vergrößerung entpuppte er sich als viele scheibenförmige, rundliche Kolonieen, die auf der Oberfläche glattrandig waren, im Nährboden selbst aber gezackten Rand besaßen (s. Zeichnung). Wohin diese Bakterienart zu ordnen ist, konnte nicht festgelegt werden.

Anzuführen ist noch, daß außer den hier näher beschriebenen Bacillen sowie dem spärlich vorkommenden Streptococcus acidi lactis und einigen Schimmelrassen einmal eine grampositive Streptothrichee in 2 grauweißen runden Kolonieen wuchs, deren Rand stachelig war. Es gelang nicht, sie weiterzuverfolgen.

Nicht einwandsfrei konnten durch die Züchtung anaërobe Buttersäurebacillen nachgewiesen werden, dagegen 2mal gramnegative sporentragende Stäbchen, deren Klassifizierung aus äußeren Ursachen unterbleiben mußte.

Nach thermophilen Arten wurde aus Mangel an Zeit nicht geforscht, Amöben kamen nicht zu Gesicht.

Im folgenden wollen wir aus der Summe unserer Untersuchungen 9 Serien herausgreifen. Der Kürze halber haben wir die Bezeichnung der einzelnen Bakterien hierin abgekürzt, wie wir es auch bei deren Beschreibung bereits getan haben. So bedeuten die Bezeichnungen „B" = Vertreter der Mesentericus-Subtilis-Gruppe, „C" = Vertreter der Acidophilus-Gruppe, worunter besonders C I den Bacillus acidophilus polymorphus darstellen soll.

I. Serie.

Normaler Darm eines 7 Tage alten Kalbes.

Der Darminhalt grünlichgelb, wenig im Dünndarm, graugrün und dicklich im Ileum, Coecum und Colon, graugrün und festschleimig im Rectum.

Die Reaktion durchgängig neutral.

a) Aërobe Plattenkultur.

1) (Magen) Ca. 20 Kolonieen B I
2 sehr kleine Kolonieen C I
2) (Duodenum) 2 „ „ „ C I
3) (Jejunum) Ungefähr 100 Kolonieen B I
5 „ B II
4) (Ileum) 10 Kolonieen B II
ca. 10 „ Coli
einige „ C I
5) (Coecum) 2 Coli-Kolonieen
10 B I-Kolonieen
15 B II- „
5 C I- „
6) (Colon) Ca. 10 Kolonieen Coli
einige „ Streptokokken (acidi lactis)
3 „ B I
3 „ B II
7) (Rectum) Ca. 15 große Kolonieen Coli und
„ 10 Kolonieen B I.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

b) Anaërobe Kultur.

1) Einzelne große Scheibe } Kokken
2) „ „ „ }
3) —
4) Coli-Kolonieen (gasbildend) und C I-Kolonieen
5) Unzählige Kolonieen C I
Einzelne Kolonieen C II
„ kleine Gasblasen (Coli)
6) Wie 5
7) Wie 5 und 6, dabei von Gas stark zerrissen. Die Anzahl der C I-Bacillen nimmt allmählich ab.

c) Acidophile Plattenkultur.

1) Ca. 30 Kolonieen B I
Viele „ C I
2) Ca. 10 „ B I
3) „ 10 „ Kokken
Viele „ B I
Sehr viele „ C I
4) „ „ „ B I
„ „ „ C I
5) 5 „ B I
Sehr viele „ C I (groß)
6) Viele „ B I
Einzelne „ Kokken
Sehr viele „ C I
7) „ „ „ C I (aërob und anaërob)
1 Kolonie B I
Ca. 10 Kolonieen Kokken

d) Anaërobe Anlage (acidophil).

Außer No. 2, worin 2 Kokkenkolonieen wuchsen, waren sämtliche anderen Röhrchen reichlich mit C I-Kolonieen durchsetzt.

e) Bakterioskopisches Bild.

1) Viele grampositive Stäbchen und Streptobacillenfäden verschiedener Größe und Dicke, manchmal kolbig aufgetrieben, oft partiell punktförmig gefärbt.
Kurze ovale, meist in Diploform sichtbare gramnegative Stäbchen.
Dünne, feine, gramnegative Stäbchen.
Dünnes gramnegatives Stäbchen mit Kopf.
Kokken, positiv nnd negativ.
Einige Spirillen.
2) Ganz vereinzelte grampositive Stäbchen.
3) Einige kleinere und größere, manchmal in Diploform auftretende positive Stäbchen.
2 positive sporentragende Stäbchen (B II).
4) Wie 3.
Einige gramnegative Stäbchen (Coli).
5) Viele positive Stäbchen (auch köpfchentragende) und längere dünne Fäden.
Viele gramnegative Stäbchen (Coli).
6) Wie 5.
7) Wie 6. Doch überwiegen hier die grampositiven Arten.

II. Serie.

Normaler Darm eines 7 Tage alten Kalbes.

Im Magen milchig geronnene Masse, Inhalt im Dünndarm gelblichweiß, dünnflüssig, im Hüftdarm dunkel-graugelb, fester, im Dickdarm gelblich weiß, schleimig fest, im Mastdarm trocken.

Die Reaktion im Magen stark sauer, im Dünndarm schwach sauer, Hüftdarm neutral, im ganzen Dickdarm schwach alkalisch.

a) Aërobe Plattenkultur.

1) (Magen) Verschiedene Kolonieen B II und 1 Fläche B III
2) (Duodenum) Ca. 30 „ B II „ 1 „ B III
3) (Jeinum) wie vor.
4) (Ileum) Die ganze Oberfläche der Platte überwuchert von B II

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

5) (Coecum) Ca. 20 Einzelkolonieen B II
1 Coli-Kolonie
viele kleine Kolonieen C I
verschiedene Kokkenkolonieen
6) (Colon) 1 größere Fläche Coli
2 Einzelkolonieen Kokken
ca. 10 Kolonieen B II
sehr viele C I-Kolonieen (unter der Oberfläche kleinste Pünktchen mit wurzelartigem Rande)
7) (Rectum) Mehrere Coli-Kolonieen
viele C I-Kolonieen.

b) Anaërobe Kultur.

1) 2 Kokkenkolonieen
2 Scheiben = C I
2) Kokkenkolonien, Coli und
2 Scheiben C I
3) Unzählig viele Kokkenkolonieen, vermischt mit C I
4) Desgleichen
5) Desgleichen, C I vorherrschend
6) Desgleichen und gasbildende Coli-Kolonieen
7) Wie 6.

c) Acidophile Plattenkultur.

1) Sehr viele C I-Kolonien
2) „ „ B II- „
3) Weniger B II-Kolonieen
4) Eine große Fläche B III
Ca. 20 Kolonieen B II
5) Ca. 15 „ B II
einige C I-Kolonieen
1 Kolonie Staphylokokken
6) Ca. 10 Kolonieen B II
Viele Kolonien C I
7) Sehr viele C I-Kolonieen unter der Oberfläche,
1 auf der Oberfläche.

d) Acidophile anaërobe Anlage.

Ergibt in sämtlichen Röhrchen im wesentlichen C I-Kolonieen und nur vereinzelt Kokkenbefunde.

e) Bakterioskopisches Bild.

1) Viele grampositive Stäbchen und Fäden, vereinzelt Ketten.
2) Spärlicherer Befund an Stäbchen und Fäden.
3) Mehr als im vorigen, vereinzelt Kokken.
4) Viele lange grampositive Fäden, wenig kurze gedrungene Stäbchen, einzeln oder in Diploform, einige ovale B I-Bacillen.
5) Viele grampositive Fäden und Ketten, dick und dünn, viele gramnegative Stäbchen.
6) Bild wie bei 5, daneben vereinzelt Staphylokokken und B II.
7) Bild wie bei 5 und 6.

III. Serie.

Normaler Darm eines 6 Tage alten Kalbes, eine Viertelstunde nach der Schlachtung untersucht.

Mageninhalt stark sauer, milchig geronnen, Inhalt des Dünndarms wenig, gelblichweiß, leicht sauer, im Dickdarm festere Masse mit alkalischer Reaktion.

a) Aërobe Plattenkultur.

1) (Magen)
2) (Duodenum) } spärliche Coli-Kolonieen
3) (Jejunum)
4) (Ileum)
5) (Coecum)
6) (Colon) } Coli-Kolonieen in großen Mengen, daneben vereinzelt C I-Kolonieen.
7) (Rectum)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

b) Anaërobe Kultur.

1) Coli-Kolonieen
Verschiedene kleine scheibenförmige C I-Kolonieen
2) Wie bei 1
3)
4)
5)
6)
7) } Coli- und C I-Kolonieen in buntem Gemisch, Acidophilus polymorphus vorherrschend.

c) Acidophile Plattenkultur.

1) Eine Fläche B II
Einige Kolonieen C I
2) Wie bei 1
3) Sehr viele kleine wurzelförmige C I-Kolonieen
4) Eine Fläche B II
Sehr viele Kolonieen C I
5) Sehr viele C I-Kolonieen
6) Sehr viele C I-Kolonieen, vereinzelt auch auf der Oberfläche (rund, ca. 1 cm im Durchmesser, grauweiß, stellen ein dichtes Gewirr dar, wie verfilzt.
7) Befund wie bei 6, daneben einige Kolonieen B I.

d) Acidophile anaërobe Kultur.

1 bis 7) hauptsächlich kleinste, wurzelförmige Pünktchen = C I, deren Zahl im Dickdarm offensichtlich größer ist, als im Dünndarm.

e) Bakterioskopisches Bild.

1) Viele grampositive und gramnegative Stäbchen, Kokken in verschiedenen Gestaltungen, grampositiv, vereinzelt bipolare B I-Bacillen.
2) Befund spärlicher als bei 1.
3) Bild ähnlich No. 2. Es treten besonders grampositive Stäbchen vor.
4) Sehr viele Coli-Bakterien, sehr spärlich grampositive Stäbchen und B I-Bacillen.
5) Viele Coli-Bakterien
Viele C-Bacillen (Acidophilus polymorphus)
Vereinzelt bipolare sporentragende Bacillen der Mesentericus-Gruppe.
6) Wie vor, die einzelnen Acidophilus-Fäden dicker
Vereinzelt Streptokokken.
7) Aehnliches Bild, daneben auch Staphylokokken und bipolar gefärbte Stäbchen (oval).

IV. Serie.

Normaler Darm eines 6 Tage alten Kalbes.

Inhalt des Magens und des Dünndarms besitzt saure Reaktion, der eingedickte Dickdarminhalt alkalische Reaktion.

a) Aërobe Plattenkultur.

1) (Magen) 2 Coli-Kolonieen
1 Schimmelrasen
2) (Duodenum) Ca. 20 Kolonieen B I
3 weiße runde Kokkenkolonieen
3) (Jejunum) Viele Kolonieen B I und B II
4) (Ileum) Eine flächenförmige B I-Kolonie
2 Kokkenkolonieen
einige Coli-Kolonieen
5) (Coecum) 5 Coli-Kolonieen
3 Kolonieen Acidophilus polymorphus
viele Kokkenscheiben
6) (Colon) Viele Coli-Kolonieen, darunter viele Kokkenscheibchen, einige C I-Kolonieen
7) (Rectum) Bild wie bei 6.

b) Anaërobe Kultur.

1) Gasbildner (Coli), daneben einige Kokkenkolonieen
2) Einige Kolonieen C I
3) 3 Kolonieen C I

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

4) 1 Kolonie C I
Einige Kokkenkolonieen
Vereinzelt Gasbildner
5) Mehr Gasbildner
Kokkenscheiben
1 Kolonie C I
6) Bild wie vorher
7) „ „ „

c) Acidophile Plattenkultur.

1) Einige Kolonieen B I und B II
1 Kokkenkolonie
2) 6 B II-Kolonieen
3) 5 B II- „
1 Kokkenkolonie
4) 1 große Fläche = B I
5) 4 Flächen B I
Viele B II-Kolonieen
1 Schimmelrasen
6) Aehnlich 5, daneben vereinzelt C I- und C II-Kolonieen
7) Sehr viele C I-Kolonieen
1 Kokkenkolonie.

d) Acidophile anaërobe Kultur.

1) —
2, 3 und 4) C I-Kolonieen
5), 6), 7) Zahlreiche Kolonieen C I (Acidophilus polymorphus).

e) Bakterioskopisches Bild.

1) —
2) Vereinzelte grampositive Stäbchen und Fäden
3) Sehr viele Acidophilus polymorphus in allen möglichen Formen, darunter Ketten, lange dünne Fäden, gerade und geschlängelt, Kurzstäbchen
Kokken, vereinzelt gramnegative Stäbchen und Formen der Mesentericus-Gruppe
4) Bild ähnlich 3
5) Es überwiegen Coli-Bakterien
6) Wie vor
7) Reichlich Bakterien der C-Gruppe, weniger Coli-Stäbchen und B-Bacillen.

VI. Serie.

Kranker Darm eines ca. 10 Tage alten Kalbes.

Der ganze Dünndarm und das Coecum stark entzündet, Schleimhaut im ganzen geschwollen, Colon und Rectum weniger ergriffen. Im Zwölffingerdarm und Leerdarm wenig gelbweißer schleimiger Inhalt, im Ileum und Colon geringe Mengen einer rötlichbraunen schleimigen Masse.

Die Reaktion ist im ganzen Darmkanal neutral bis sauer.

a) Aërobe Plattenkultur.

1) —
2) (Duodenum) Eine große Fläche B I
einige unter der Oberfläche liegende B II-Kolonieen
3) (Jejunum) 1 kleine Kokkenkolonie
einige B I-Kolonieen
4) (Ileum) Die ganze Platte überwuchert von B I
5) (Coecum) Bild wie bei 4
6) (Colon) Bild wie bei 4
7) (Rectum) Einige Kolonieen B I
1 Fläche B III
einige Coli-Kolonieen
vereinzelt C-Kolonieen (klein, wurzelförmig, unter der Oberfläche).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

b) Anaërobe Kultur.

1) —
2) } Vereinzelt kleinste C-Kolonieen
3) }
4) }
5) Wie vor
6) „ „
7) „ „ daneben Gasbildner.

c) Acidophile Plattenkultur.

1) —
2) Viele Kolonieen der B-Gruppe
3) „ „ „ „
4) Bild wie vor, daneben viele tautropfenähnliche oberflächliche Kolonieen C I
5) Wie 4
6) Viele runde Kolonieen B I
Einige tiefliegende C I-Kolonieen
7) Wie 4.

d) Acidophile anaërobe Kultur.

1) —
2) Kein Wachstum
3) Einzelne und in verschiedenen Richtungen wachsende glattrandige Scheiben verschiedener Größe = lange dünne Stäbchen und Fäden
4) Kein Wachstum
5) Viele kleine Scheibchen, teils von dünnem Geäst umgeben = C I und C II
6) Kein Wachstum
7) „ „

e) Bakterioskopisches Bild.

1) —
2) Vereinzelte Haufen positiver Stäbchen verschiedener Größe
3) Bild wie vor
4) Mehr positive Stäbchen verschiedener Größe und Form (auch Streptobacillen)
5) Reichlich sporentragende grampositive Stäbchen
C-Formen
Kokken
6) Fraglich
7) Reichlich bipolar gefärbte grampositive ovale Stäbchen = B I
Wenig Kokken
Vereinzelt C-Stäbchen, die fast nur schlecht gefärbte Hüllen darstellen.

VII. Serie.

Darm eines 5 Tage alten Kalbes, das wegen Omphalophlebitis notgeschlachtet wurde. Der ganze Darmkanal außen stark gerötet. Die Schleimhaut im Dünn- und Dickdarm geschwollen.

Inhalt gelbflüssig, mehr schleimig im Dünndarm, dünnflüssig im Dickdarm. Reaktion durchgängig leicht sauer.

a) Aërobe Plattenkultur.

1) —
2) (Duodenum) }
3) (Jejunum) }
4) (Ileum) } Sämtliche Platten überwuchert von Kolonieen der Mesentericus-Gruppe.
5) (Coecum) }
6) (Colon) }
7) (Rectum) }

b) Anaërobe Kultur.

1) —
2) Einzelne C I-Kolonieen
3) Desgl.
4) Kokken und Gasbildner
5) Bild wie vor
6) Desgl.
7) Bild ähnlich 6, daneben viele C-Kolonieen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

c) Acidophile Plattenkultur.

1) —
2—7) Zeigt starkes Wachstum von B-Bakterien, daneben spärliche Kolonieen der C-Gruppe.

d) Acidophile anaërobe Kultur.

1) —
2—7) Reichliches Wachstum von C I-Bacillen (B. acidophilus polymorphus) in Form kleinster Pünktchen, meist mit wurzelförmigem Rand.

e) Bakterioskopisches Bild.

1) —
2) Grampositive Stäbchen, auch in Form von Streptobacillen
3) Bild wie vor, daneben positive sporentragende Stäbchen
4) B II fast in Reinkultur, wenig Formen des Acidophilus
5) B I und II in großen Mengen
Vereinzelt Coli
Bacillen der C-Gruppe, spärlich
6) B II in großen Mengen
Wenig C-Bacillen und Coli-Bakterien
7) Bild wie vorher.

VIII. Serie.

Enteritis haemorrhagica eines 8 Tage alten Kalbes.

Die Schleimhaut des Leer- und Hüftdarms stark geschwollen und gerötet, im Dickdarm besonders auf der Höhe der Falten.

Inhalt: Dünndarm fast leer, rötlichgelb, schäumig, Dickdarm rötlich-graugelb, weich bis flüssig, in größeren Mengen.

Reaktion durchgängig neutral bis sauer.

a) Aërobe Plattenkultur.

1) (Magen) Wenig Kolonieen B II
2) (Duodenum) Wenig Kolonieen B II
Mehrere Kolonieen C I
3) (Jejunum) 7 Kolonieen der C-Gruppe
1 größere Fläche B I
4) (Ileum) Wenig Kolonieen B II bzw. B. I
Viele Coli-Kolonieen
5) (Coecum) Coli und B-Kolonieen in buntem Gemisch, vereinzelt C-Kolonieen
6) (Colon) Viele Kolonieen der B-Gruppe
7) (Rektum) Bild wie bei 5), daneben einige Kokkenkolonieen.

b) Anaërobe Kultur.

1) —
2) —
3) Einige Gasbildner und ein große weiße Scheibe (Kokken)
4) Wie 3
5) Viele kleine Scheiben, die teils der Coli-, teils der Acidophilus-Gruppe angehören
6) Wie vorher
7) „ „

c) Acidophile Plattenkultur.

1) Fraglich
2—7) Ausschließlich Kolonieen aus der Mesentericus-Gruppe.

d) Acidophile anaërobe Kultur.

1) Viele Kolonieen C I in Form kleinster Pünktchen
2) —
3) —
4) —
5) Wie 1
6) Fraglich
7) Viele C I-Kolonieen in Form von Pünktchen und kleinen Scheiben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

e) Bakterioskopisches Bild.

1) Viele kleine feine gramnegative Stäbchen
Viele grampositive Bakterien verschiedener Form
2) Spärlicher Befund ähnlich 1, daneben sporentragende positive Stäbchen
3) Fraglich
4) Bild ähnlich 2
5) Viele B II-Bacillen, vereinzelt Coli-Bakterien
6) Viele Acidophilus-Bakterien, worunter Formen vorherrschen mit punktförmiger Chromatinanhäufung bei sonst leeren Hüllen
Viele Staphylokokken
B II-Bacillen
Vereinzelte gramnegative Stäbchen
7) Vereinzelt C I-Bacillen
Viele sporentragende Stäbchen der B-Gruppe.

IX. Serie.

Enteritis catarrhalis eines ca. 12 Tage alten Kalbes.
Inhalt: im Dünndarm gelblichrot, dünn, leicht schäumend, im Dickdarm fester. Reaktion durchgängig leicht alkalisch.

a) Aërobe Plattenkultur.

1) (Magen) —
2) (Duodenum) 1 Kolonie B II und 1 Kolonie Kokken
1 große dünne transparente Fläche = Coli-Bakterien
3) (Jejunum)
4) (Ileum)
5) (Coecum)
6) (Colon)
7) (Rectum)
} Coli-Kolonieen in großen Mengen, fast in Reinkultur.

b) Anaërobe Kultur.

1) —
2) Einige Kolonieen C I
3—7) Gasbildende Coli-Kolonieen.

c) Acidophile Plattenkultur.

1) —
2) —
3) —
4) 2 Kolonieen B II
2 Kolonieen Kokken
5) Eine größere Fläche B II
6) Eine kleine Kolonie B II
Kokken
Vereinzelt Acidophilus-Kolonieen (unter der Oberfläche)
7) Wie vor, C-Kolonieen reichlicher.

d) Acidophile anaërobe Kultur.

1—7) Fraglich.

e) Bakterioskopisches Bild.

1) —
2) Vereinzelt Kokken
3) Viele Staphylokokken
Wenige gramnegative Stäbchen
Vereinzelt B II-Bacillen
4) Kokken verschiedener Form
Coli-Bakterien
5—7) Reichlich Coli-Bakterien, spärlich Staphylokokken und B-Bacillen, wenig Formen aus der C-Gruppe.

Werden die Resultate der einzelnen Untersuchungen zusammengefaßt, so ergibt sich die Tatsache, daß beim Kalbe von einer einheitlichen „physiologischen Stuhlflora“ in dem Sinne, wie z. B. Moro sie für den gesunden Säuglingsdarm bei Brustkindern in Anspruch nimmt,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nicht die Rede sein kann. Es findet dies seine natürliche Erklärung vor allem in den anderen weit unreineren Lebensverhältnissen, in denen die „tierischen Säuglinge“ aufwachsen.

So erscheinen Vertreter der Acidophilus-, Coli- und Mesentericus-Gruppe in buntem Gemisch, bakterioskopisch und kulturell nachweisbar, im Darminhalt eines jedes Kalbes. Eine bestimmte Gesetzmäßigkeit in dem Auftreten dieser 3 Haupttypen konnte jedoch nicht erkannt werden.

Darin stimmen die hiesigen Befunde mit der geltenden Ansicht überein, daß der ganze Dünndarm bakterienarm ist, während im Dickdarm die Bakterien sich in ungeheurer Anzahl vorfinden. Es ist das nicht weiter auffällig, da der sehr spärliche, neutral bis sauer reagierende Inhalt des Dünndarms auf seinem schnellen Weg nur ein unvollkommenes Nährmedium abgibt und die Entwickelung der Mikroorganismen, insbesondere der Coli-Gruppe, hintanhält. In der Tat finden wir Coli in normalen Fällen fast nur im Dickdarm. Dieser letztere aber eignet sich vermöge seiner großen Menge feuchten alkalischen Inhalts, seiner langsamen Peristaltik und der dort stattfindenden Gärungsvorgänge vorzüglich als Brutstätte der bis hierin gelangten pflanzlichen Kleinlebewesen. Der Blinddarm insbesondere kann als „Brutofen par excellence“ bezeichnet werden.

Ob die Autosterilisation des Darmkanals, insbesondere des Dünndarms, bei diesen Vorgängen wirklich die ihr zugesprochene wichtige Rolle spielt, erscheint uns danach doch etwas zweifelhaft. Jedenfalls wird man der Galle wenigstens bakterizide Eigenschaften kaum zuschreiben können, benutzt man dieselbe doch zur Anreicherung bei der Züchtung verschiedener Bakterien (z. B. Paratyphusbacillen).

Das Verhältnis der 3 erwähnten Typen zueinander ist offenbar keinen bestimmten Regeln unterworfen, da sie meist friedlich neben- und durcheinander vorkommen, aber es scheint doch, als wenn dort, wo Coli gehäuft auftritt, der Acidophilus polymorphus mehr in den Hintergrund gedrängt sei und umgekehrt, daß also ein gewisser Antagonismus zwischen beiden besteht, der schon seine Begründung darin finden kann, daß der Acidophilus auch in sauer reagierenden Medien sein Fortkommen findet, während die Entwickelung des Coli-Bacillus dort gehemmt ist.

Zweifellos hängt die Anwesenheit des B. acidophilus polymorphus mit der Milchernährung zusammen. Mit der Milch gelangt er in den Magen, von dort in den Darmtraktus, wo er in dem ihm zusagenden Inhalt als harmloser Parasit vegetiert. Eine schädigende Wirkung auf die Darmschleimhaut wird ihm kaum zuzusprechen sein, da er bei allen untersuchten Enteritiden in den Hintergrund tritt, um seinen offenbar weit gefährlicheren Partnern, vor allem dem B. coli freie Bahn zu machen. Sicherlich hemmen die Acidophilbakterien die Milchverdauung nicht, wenn anders ihre Eigenschaften, daß sie Milch zu labartiger Gerinnung bringen — in vitro geht eine längere Züchtung auf Kosten des ausgefällten Caseins —, daß sie Lackmusmolke schnell säuern, daß sie als schwache Ammoniakbildner einen gewissen, wenn auch nur ganz bescheidenen Anteil an dem Eiweißabbau im Verdauungskanal haben, richtig zu deuten sind.

Auffällig ist der angeführte Fall Serie IX, in dem die Vertreter der Acidophilus-Gruppe im Dickdarm beim direkten Ausstrichpräparat vorwiegend in Form leerer Hüllen vors Auge traten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Daß Bakterien aus der Gruppe des B. mesentericus bzw. subtilis ein konstantes Vorkommen im Darminhalt des Kalbes abgeben, kann mit Rücksicht auf die unreine Lebenshaltung, in der die Kälber im Vergleich zu den Säuglingen aufgezogen werden, ebenfalls auf natürliche Weise seine Erklärung finden. Ob diese — 3 sind in der Arbeit näher beschrieben — auf die Verdauung einen Einfluß ausüben, ist nicht sicher, hemmen werden sie diese jedenfalls nicht, da sie auch Milch binnen kurzem zur Gerinnung bringen, Lackmusmolke röten und daneben noch Gelatine verflüssigen. Ob sie die Ursache für Enteritiden abgeben können, scheint nach den verschiedenen, stets negativ ausgefallenen Impfversuchen an Mäusen, denen oft größere Mengen (3 Platinösen) subkutan einverleibt wurden, fraglich. Zu denken geben aber die angeführten Fälle, bei denen aus Magen und allen Darmabschnitten Vertreter dieser Gruppe fast in Reinkultur gezüchtet werden konnten, alle anderen Bacillen aber, insbesondere B. acidophilus polymorphus und coli, dagegen stark in den Hintergrund traten.

So viel steht nach unseren Untersuchungen fest, daß außer den auch in sauren Medien gedeihenden B. acidophilus- und Mesentericus-Vertretern neben meist grampositiven Kokken jeder Gestaltung unter normalen Verhältnissen fast nur noch die zähen Coli-Bakterien sich aus dem bakteriziden Magensaft retten, während alle zarteren Gebilde in der Regel dort zugrunde gehen. Nicht richtig kann es aber sein, daß aus dem Darminhalt nur 2—3 Proz. oder noch weniger aller dort bakterioskopisch festzustellenden Bakterien lebensfähig, d. h. züchtbar sein sollen; eher dürfte nach unseren Erfahrungen das Umgekehrte der Fall sein; wo sollten auch im Dickdarm plötzlich die vielen abgestorbenen Bacillen herkommen, nach denen man im Dünndarm meist vergeblich sucht?

Die Vertreter der 3 Haupttypen können nur deswegen „obligat" genannt werden, weil sie ständig in jedem Darmkanal zu finden sind, jedoch scheint es mir gewagt, einzelnen Stämmen dieser oder jener der 3 Gruppen den Begriff „autochthon" d. h. „dem betreffenden Darm eigentümlich" beizulegen, wie es Kohlbrugge u. a. tun und wie es in bezug auf das B. coli bereits mehrfach widerlegt ist.

Als Ergebnis meiner Untersuchungen habe ich folgende Leitsätze aufzustellen:

1) Die Bakterienflora des Darmkanals bei Saugkälbern ist nicht physiologisch einheitlich, besitzt jedoch 3 konstant vorkommende Haupttypen:

a) B. acidophilus polymorphus,

b) B. coli,

c) B. mesentericus.

Alle 3 haben die Eigenschaften gemeinsam, daß sie binnen kurzem Milch zur Gerinnung bringen und Lackmusmolke röten. Daneben fanden sich Kokken in verschiedenen Formen. Gediehen sie aus saurer Bouillon, so waren sie fast immer grampositiv.

2) Es scheint, als ob bei den Bakterien eine Wechselbeziehung bestände zwischen Gramfestigkeit und der Eigenschaft, in sauren Nährmedien zu wachsen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:13 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3) Der in der Literatur als strenger Anaërobier beschriebene B. bifidus (Tissier) wächst auch fakultativ aërob und zeitigt Formen, die seither dem B. acidophilus (Rodella) zugerechnet wurden. Er zeigt großen Pleomorphismus, weshalb die Benennung „B. acidophilus polymorphus" seinen Eigentümlichkeiten mehr entsprechen dürfte. Er hat mit dem hier isolierten Bac. C II und dem augenscheinlich anaëroben C III in seinen Lebensäußerungen große Aehnlichkeit, ist mit ersterem offenbar identisch, so daß diese 3 als eine Gruppe = „säureliebende Milchkotbakterien" zusammenzufassen sind.

4) Als Ursache für Enteritiden kommen diese acidophilen Milchkotbakterien nach unseren Befunden nicht in Betracht.

5) Dagegen spielen Vertreter der Coli- und Mesentericus-Gruppe sowie Streptokokken beim Zustandekommen von Darmerkrankungen eine zweifelhafte Rolle, jedenfalls wurden Stämme dieser 3 Typen in einigen erkrankten Kälberdärmen fast in Reinkultur angetroffen.

6) Sporentragende Bacillen, insbesondere auch anaëroben Charakters, wurden im Darminhalt, abgesehen von den Vertretern der Mesentericus-Subtilis-Gruppe, kulturell nicht einwandfrei nachgewiesen, dagegen einmal ein eigentümliches, aërobes, köpfchentragendes Bakterium, dessen Klassifizierung jedoch nicht festgelegt werden konnte.

Ich erachte es für meine Pflicht, an dieser Stelle dem Schlachthofdirektor Herrn Kollegen Dr. Peters meinen besten Dank für die Bereitwilligkeit auszusprechen, mit der er meine Arbeiten jederzeit ideell und materiell unterstützte. Ganz besondere Anerkennung aber verdient Herr Kollege Kohl, derzeit Assistenztierarzt am Schlachthof in Mainz, für seine wahrhaft selbstlose Hilfe, die zum Erreichen des vorgesetzten Zieles wesentlich beitrug.

Literatur.

Aus dem umfangreichen Literaturverzeichnis seien angeführt:

Alapi, H., Verhalten der pyogenen Mikroorganismen im Darmtraktus. (Orvosi Hetilap. 1888; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. 5. 1889.)

Ankersmith, P., Untersuchungen über die Bakterien im Verdauungskanal des Rindes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1906.)

Austerlitz u. Landsteiner, Ueber die Bakteriendichtigkeit der Darmwand. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 23. 1898.)

Babes, Bakteriologische Untersuchungen über septische Prozesse des Kindesalters. Leipzig (Veit u. Co.) 1889. (Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. 5. 1889.)

Baer, Ein weiterer Beitrag zu den colibacillären Infektionen des Kalbes. (Schweiz. Arch. f. Tierheilk. 1902; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 32. 1902/03.)

Baginsky, Zur Biologie der normalen Milchkotbakterien. (Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 12; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. 4. 1888.)

Barbacci, Il Bact. coli commune e le peritoniti da perforazione. (Lo Sperimentale. 1891; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1892.)

Belonowsky, Zur Frage der Wirkung steriler Nahrung auf die Darmflora. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. 1907.)

Bergey, Milchsäurebakterien in der Milch. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Ref. Bd. 40. 1907.)

Bienstock, B. putrificus coli. (In „Flügge, Mikroorganismen". p. 268.)

Boas, Ueber Amöbenenteritis. (Dtsch. med. Wochenschr. 1896.)

Booker, W., A study of some of the Bact. found in the dejecta of infants afflicted with summer diarrhoea. (Transact. of the Ninth Intern. Medical Congr. Vol. 3; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. 5. 1889.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bruini, Ueber die thermophile Mikrobenflora des menschlichen Darmkanals. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. 1905.)
Brunner, Die bisherigen Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung bei Magenperitonitis. (Beitr. z. klin. Chir. Bd. 40. 1903; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 35. 1904.)
Burri u. Düggeli, Beiträge zur Systematik der Coli-Aërogenes-Gruppe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909.)
Cahn, Ueber die nach Gram färbbaren Bacillen des Säuglingsstuhls. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 30.)
Capitan u. Moreau, Recherches sur les microorganismes de l'estomac. (Compt. rend. hebd. des séanc. de la Soc. de Biol. 1899; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. 5. 1889.)
Cipollina, Ueber das Vorhandensein der sogenannten säureliebenden Bakterien im Stuhl des erwachsenen Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32. 1902.)
Chantemesse, Widal et Legry, Des infections par le coli-bacille. (Le Bull. méd. 1891; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1893.)
Cohnheim, Ueber Infusorien im Magen und Darmkanal des Menschen und ihre klinische Bedeutung. (Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 23; Dtsch. med. Wochenschr. 1903.)
Corzolino, Olimpio, Ueber die Vegetation von B. coli in der Kuh-, Eselin-, Ziegen- und Frauenmilch. (Arch. f. Kinderheilk. 1902; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 32.)
Dallemagne, Deux cas de choléra nostras, infection par le coli-bacille. (Journ. de méd. de Bruxelles. 1892.)
Eckardt, Ueber Coccidiosis intestinalis bei Geflügel. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1903; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 33. 1903.)
Ellermann, Ueber kleinste Organismen im menschlichen Speichel. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. 1907.)
Escherich, 1) Die Darmbakterien des Säuglings. Stuttgart (Enke) 1886.
1a) Die Bedeutung der Bakterien in der Aetiologie der Darmerkrankungen der Säuglinge. (Dtsch. med. Wochenschr. 1898; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 25. 1899.)
2) Notiz zu dem Vorkommen feiner Spirillen in diarrhöischen Dejektionen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 15. 1894.)
3) Ueber spezielle Krankheitserreger der Säuglingsdiarrhöen (Streptokokkenenteritis). (Wien. klin. Wochenschr. 1897; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 23. 1898.)
4) Pyocyaneusinfektionen bei Säuglingen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 25. 1899.)
Finkelstein, Ueber säureliebende Bakterien im Säuglingsstuhl. (Dtsch. med. Wochenschr. 1900. No. 16; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 30.)
Fuller, Die Bakterienflora der Eingeweide der Austern. (Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 33.)
Gabritschewsky, Bact. coli commune. (Medizinskoe obosrenie. T. 41. 1894; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 17. 1895.)
Gaffky, Hausepidemien von fieberhaftem Brechdurchfall etc., verursacht durch Bac. ent. mucosus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1905.)
Giaxa, De la quantité des Bactéries dans le contenu du tube gastro-entérique de quelques animaux. (Arch. ital. de Biol. 1889; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890.)
Gilbert, De la colibacillose. (La Semaine méd. 1895; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 17. 1895.)
Glage, Ueber das Vorkommen der Gripsschen Peritonitis beim Rinde. (Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1903.)
Heinick, Beitrag zur Kenntnis der Bakterienflora des Schweinedarms. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 32.)
Hellström, Untersuchungen über Veränderungen in der Bakterienzahl der Faeces bei Neugeborenen. (Arch. f. Gynäk. Bd. 43. H. 3; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 30.)
Hesse, Ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Darmbakterien mit besonderer Berücksichtigung der Typhusbacillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 45. 1908.)
Hilgermann, Die Bakteriendurchlässigkeit der normalen Magendarmschleimhaut im Säuglingsalter. (Arch. f. Hyg. Bd. 54; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 39. 1907.)
Hochsinger, Neues über Physiologie und Pathologie der Verdauung im Säuglingsalter. (Allgem. med. Zeitschr. Jahrg. 33. 1888; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. 4. 1888.)
Hoffmann, Ueber das Vorkommen des Tetanuserregers in den Faeces von Tieren. (Hyg. Rundsch. 1905; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 39. 1907.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Horowitz, Ueber die Bakterien des Verdauungstraktus beim Hunde. (Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 52; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 41. 1908.)
Herter, The common bacterial infections of the digestive tract and the intoxications arising therefrom. (Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 41. 1908.)
Jacobi u. Schaudinn, Ueber zwei neue Infusorien im Darm des Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 25. 1899.)
Jaksch, Ueber das Vorkommen von tierischen Parasiten in den Faeces von Kindern. (Wien. klin. Wochenschr. 1888; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. 4. 1888.)
Ide, Manille, Anaërobiose du bacille commun de l'intestin et de quelques autres bactéries. (La Cellule. T. 7; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. 14. 1893.)
Jeffries, The Bacteria of the alimentary canal especially in the diarrhoea of infancy. (Boston med. and surg. Journ. 1888; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. 5. 1889.)
Jehle, Neue Beiträge zur Bakteriologie und Epidemiologie der Ruhr im Kindesalter. (Jahrb. f. Kinderheilk. 3. F. Bd. 12; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 38. 1906.)
Joest, Beitrag zur Kenntnis der Bakterienflora des Hühnerdarms und einige Bemerkungen über eine neue Hühnerseuche. (Berl. tierärzt. Wochenschr. 1902; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 35. 1904.)
Jouhand, Caractères biologiques de l'Entérocoque. (Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 35. 1904.)
Kiessling, Das Bact. coli commune. (Hyg. Rundsch. 1893; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. 15. 1894.)
Klein, A., Die physiologische Bakteriologie des Darmkanals. (Arch. f. Hyg. Bd. 45. 1902; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 33.)
— Mikroskopische Zählungsmethode. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 27. 1901.)
Kleyn, A., Bact. onderzoekingen van menschelijke faeces. (Kon. Akadem. v. Wetensch. Amsterdam 1901.)
Klimenko, Beitrag zur Pathologie des Bact. coli. (Ref. im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 33. 1903.)
Kohlbrugge, Der Darm und seine Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I Bd. 30. 1901.)
Kolle, Einige Betrachtungen über die Bakteriologie der Faeces. (Med. Klin. 1905; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 38. 1907.)
De Lange, Cornelia, Zur Darmvegetation gesunder Säuglinge. (Jahrb. f. Kinderheilk. 1901; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 31. 1902.)
Langer, Untersuchung über einen mit Knötchenbildung einhergehenden Prozeß in der Leber des Kalbes und dessen Erreger. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 47. 1904; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 35. 1904.)
Lehmann, Felix, Ueber den gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse von der Bakteriologie der Faeces beim Kinde im ersten Lebensjahr. [Inaug.-Diss.] 1903. (Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 36. 1905.)
Leiner, K., Ueber bacilläre Dysenterie, speziell im Kindesalter. (Wien. klin. Wochenschr. 1904; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 36. 1905.)
Lembke, Beitrag zur Bakterienflora des Darms. (Arch. f. Hyg. Bd. 26.)
Leschziner, Ueber die Bakterienmengen in den Säuglingsfaeces. (Deutsche Aerztezeitg. 1903; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 35. 1904.)
Lesage, Sur le choléra infantile et le choléra nostras. (La Semaine méd. 1890; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890.)
— Du bacille de la diarrhée verte des enfants du premier age. (Arch. de physiol. norm. et pathol. 1888; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. 4. 1888.)
— De la dyspepsie et la diarrhée verte des enfants du premier age. (Rev. de méd. 1887—1888; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. 4. 1888.)
Lommel, Eine aus Darminhalt gezüchtete Hefeart. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 29. 1901.)
Mereskowsky, Ueber die Rolle der Mikroorganismen im Darmkanal. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1906.)
Moro, Morphologische und biologische Untersuchungen über die Darmbakterien des Säuglings. (Jahrb. f. Kinderheilk. 3. F. Bd. 11.)
— Ueber die nach Gram färbbaren Bacillen des Säuglingsstuhles. (Wien. klin. Wochenschrift. 1900.)
Müller, P. Th., Ueber die Streptokokken der Milch. (Arch. f. Hyg. Bd. 56. 1906.)
Neubauer, Ueber anaerobe Bakterien im Rinderdarm. [Inaug.-Diss.] Berlin 1901. (Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 39. 1907.)
Neumann, Beitrag zur Biologie des Erregers der Kälberruhr. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908.)
— Beitrag zur Kenntnis des Erregers der Kälberruhr, speziell der Colibacillose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. 1907.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Oker Blom, Beitrag zur Kenntnis des Eindringens des B. coli commune in die Darmwand in pathologischen Zuständen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1894.)
Opitz, Beiträge zur Frage der Durchgängigkeit von Darm und Nieren für Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 29. 1898; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 25. 1899.)
Passini, Ueber anaërobe Darmbakterien. (Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 32.)
— Ueber granulosebildende Darmbakterien. (Wien. klin. Wochenschr. 1902; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 31.)
—, Studien über fäulniserregende anaërobe Bakterien des normalen menschlichen Darms und ihre Bedeutung. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 49. 1905; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 37. 1906.)
— Die bakteriellen Hemmungsstoffe Conradis und ihr Einfluß auf das Wachstum der Anaërobier des Darms. (Wien. klin. Wochenschr. 1906; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 39. 1907.)
Pestana und Bettencourt, Ueber das Vorkommen feiner Spirillen in den Faeces. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 17. 1895.)
Prescott, Ein weiterer Beweis für die anscheinende Identität von B. coli und gewissen Milchsäurebakterien. (Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 33. 1903.)
Piorkowski und Jess, B. coli als Ursache eines seuchenartigen Pferdesterbens in Westpreußen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 21. 1901.)
Rasch und Reuss, Zur Aetiologie der Cystitis im Säuglingsalter [Bac. bifidus communis und ein Paracolibacillus]. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909.)
Rodella, Studien über Darmfäulnis, Fäulnisvermögen des normalen Säuglingsstuhles. (Wien. klin. Wochenschr. 1902; Ref. im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1911.)
— Einige Bemerkungen zu dem Aufsatz von Dr. Cahn „Ueber die nach Gram färbbaren Bacillen des Säuglingsstuhls.“ (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 31. 1902.)
— Ueber anaërobe Bakterien im normalen Säuglingsstuhl. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 39; Ref. im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 32.)
— Ueber die Bedeutung der im Säuglingsstuhl vorkommenden Mikroorganismen mit besonderer Berücksichtigung der anaëroben Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 41. 1902; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 32.)
— Ueber die sogenannten säureliebenden Bacillen im Säuglingsstuhl. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 29. 1901.)
Rolly, Die Abtötung von Bakterien im Dünndarm. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 37. 1906.)
— Experimentale Untersuchungen über das biologische Verhalten der Bakterien im Dickdarm. (Deutsche med. Wochenschr. 1906.)
Schild, Bakterien im Darminhalt Neugeborener. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 19; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 17. 1895.)
Schottmüller, Zur Aetiologie der akuten Gastroenteritis. (Münch. med. Wochenschr. 1904; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 35. 1904.)
Schott, Berechtigen experimentelle oder klinische Erfahrungen zu der Annahme, daß pathogene oder nicht pathogene Bakterien die Wand des gesunden Magendarmkanals durchwandern können? (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 29. 1901.)
Seiffert, Studien zur Biologie der Darmbakterien. (Deutsche med. Wochenschr. 1911; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 52. 1912.)
Straßburger, Ueber die Bedeutung der normalen Darmbakterien für den Menschen. (Münch. med. Wochenschr. 1903; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 35. 1904.)
Sittler, Beiträge zur Bakteriologie des Säuglingsdarms. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908.)
Schmidt, Untersuchung über Hämolyse bei Coli- und anderen Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909.)
— Ueber B. coli und Mesentericus-Bacillose des Magens nebst Bemerkungen zur Milchsäurebacillenflora. (Wien. klin. Wochenschr. 1901; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 30. 1901.)
Tavel, Ueber den Pseudotetanusbacillus des Darms. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 23. 1898.)
Tissier, Recherches sur la flore intestinale normale et pathologique du nourisson. Paris (G. Garré et Naud.) 1900.
Totsuka, Studien über B. coli. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 45; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 35. 1904.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Uffenheimer, Weitere Stadien über die Durchlässigkeit des Magendarmkanals für Bakterien. (Deutsche med. Wochenschr. 1906; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 40. 1907.)
Valagussa, F., Aetiologie und Serumtherapie der Kinderdysenterie. (Ann. d'ig. sperim. Vol. 10; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd 29. 1901.)
Weiss, Zur Kenntnis der Darmflora. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 36. 1904.)
Weil, R., Ueber die Wachstumsmöglichkeit des Heubacillus im Tierkörper. (Wien. klin. Wochenschr. 1905; Ref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 38. 1906.)
Sidney Wolf, Beiträge zur Lehre der Agglutination mit besonderer Bezugnahme auf die Differenzierung der Coli- und Proteus-Gruppe und auf die Mischinfektionen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 25. 1899.)
Ziklinskaja, Die Bakterienflora des menschlichen Darmkanals. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32.)

Nachdruck verboten.

Pouvoir immunisant de la substance nerveuse rabique d'animaux (poulets, canards, oies) dont la substance nerveuse normale est privée du pouvoir immunisant.

Mécanisme de l'immunisation rabique.

III. Note.

[Institut antirabique uni à l'Institut d'Hygiène de la R. Université de Sassari.]

Par Prof. **Claudio Fermi.**

Après avoir démontré que pas toujours le mélange de germes rabiques et de substance nerveuse rabique est doué du pouvoir immunisant, car: a) la seule substance grise et la seule substance blanche, tant normale que rabique, possèdent un pouvoir immunisant presque nul en comparaison des deux substances réunies, b) et les nerfs vagus, sympathique et ischiatique en sont presque privés, j'ai voulu étudier le pouvoir immunisant de la substance nerveuse rabique centrale entière des animaux, dont la substance nerveuse normale est privée du pouvoir immunisant.

A cet effet je choisis la substance nerveuse rabique du poulet, du canard et de l'oie dont la substance nerveuse normale est privée de tout pouvoir immunisant pour les murides, qui sont les animaux le plus faciles à immuniser.

Expérience 1. Substance nerveuse rabique du poulet.

De 5 souris infectées auparavant de virus de rue par voie sous-cutanée, traitées avec deux injections par jour, pendant 15 jours, à $^1/_4$ de c.c. d'une émulsion à 5 % en acide phénique de 1 % d'encéphale de poulet, mort d'infection de virus fixe, on ne sauvait qu'une seule, c'est-à-dire le 20 %.

Tous les animaux de contrôle au contraire moururent de rage.

Expérience 2. Substance nerveuse rabique du canard.

De 4 rats infectés auparavant de virus de rue, par voie sous-cutanée, traités avec deux injections par jour, pendant 15 jours, avec 1 c.c. d'une émulsion à 5 % en acide phénique 1 % d'encéphale de canard mort de virus fixe, on ne sauvait aucune.

De 4 souris également infectées auparavant de virus de rue, par voie sous-cutanée, traitées avec 2 injections par jour, pendant 15 jours, avec $^1/_4$ de c.c. d'une émulsion à 5 % en acide phénique 1 % d'encéphale de canard, on ne sauvait aucune.

Expérience 3. Substance nerveuse rabique de l'oie.

De 7 rats infectés auparavant de virus de rue, par voie sous-cutanée, traités avec 2 injections par jour, pendant 15 jours, avec 1 c.c. d'une émulsin à 5 % en acide phé-

1) Les oiseaux furent infectés par voie sous-durale avec le Virus fixe que le collègue Kraus de l'Institut sérothérapeutique de Vienne eut la bonté de m'envoyer.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Pouvoir immunisant de l'émulsion de l'encéphale de poule-oie-canard morts par virus fixe confronté avec le pouvoir immunisant de l'émulsion 5 % de virus fixe de lapin.

Date	Animaux	Voie d'infection	Quantité injectée	Virus infectant	Date de l'immunisation	No. des injections par jour	No. des jours d'immunisation	Quantité injectée	Substance immunisante	Poids de l'animal	Quantité injectée	Date de la paralyse	Date de la mort
10. 6.	rat 1	sous-cutanée	1/2 c. c.	Virus de rue	10. 6.	2	15	1 c. c.	Émulsion 5 % de l'encéphale d'oie rabique	.	30 c. c.	25. 6. 7 p	26. 6. 7 a
10. 6.	„	„	1/2 „	„	10. 6.	2	15	1 „	Idem	.	30 „	25. 6. 7 p	26. 6. 7 a
10. 6.	„	„	1/2 „	„	10. 6.	2	15	1 „	„	.	30 „	25. 6. 7 p	26. 6. 7 a
10. 6.	„	„	1/2 „	„	10. 6.	2	15	1 „	„	.	30 „	28. 6. 7 a	28. 6. 7 p
10. 6.	„	„	1/2 „	„	10. 6.	2	15	1 „	„	.	30 „	28. 6. 7 a	28. 6. 7 p
10. 6.	„	„	1/2 „	„	10. 6.	2	15	1 „	„	.	30 „	vive	
10. 6.	„	„	1/2 „	„	10. 6.	2	15	1 „	„	.	30 „	„	
Émulsion de l'encéphale de poule.													
30. 6. 1912	souris 1	sous-cutanée	1/4 c. c.	Virus de rue	30. 6.	2	15	1/4 c. c.	Émulsion de l'encéphale d'poule rabique	.	7 c. c.	14. 7. 7 p	19. 7. 7 a
30. 6.	„	„	1/4 „	„	30. 6.	2	15	1/4 „	Idem	.	7 „	14. 7. 7 p	15. 7. 7 a
30. 6.	„	„	1/4 „	„	30. 6.	2	15	1/4 „	„	.	7 „	14. 7. 7 p	15. 7. 7 a
30. 6.	„	„	1/4 „	„	30. 6.	2	15	1/4 „	„	.	7 „	14. 7. 7 p	15. 7. 7 a
30. 6.	„	„	1/4 „	„	30. 6.	2	15	1/4 „	„	.	7 „	vive	
30. 6.	„	„	1/4 „	„	30. 6.	2	15	1/4 „	Témoin	.	7 „	13. 7. 7 a	14. 7. 7 p
30. 6.	„	„	1/4 „	„	30. 6.	2	15	1/4 „	„	.	7 „	13. 7. 7 a	14. 7. 7 p
Émulsion de l'encéphale de oie.													
21. 9.	rat 1	sous-cutanée	1/2 c. c.	Virus de rue	21. 9.	2	19	1 c. c.	Émulsion de l'encéphale d'oie rabique	.	30 c. c.	6. 10. 7 p	7. 10. 7 a
21. 9.	„	„	1/2 „	„	21. 9.	2	19	1 „	Idem	.	30 „	6. 10. 7 p	7. 10. 7 a
21. 9.	„	„	1/2 „	„	21. 9.	2	19	1 „	„	.	30 „	6. 10. 7 p	7. 10. 7 a
21. 9.	„	„	1/2 „	„	21. 9.	2	19	1 „	„	.	30 „	6. 10. 7 p	7. 10. 7 a
21. 9.	souris 1	„	1/4 „	„	21. 9.	2	15	1/4 „	„	.	7 „	5. 10. 7 p	6. 10. 7 a
21. 9.	„	„	1/4 „	„	21. 9.	2	15	1/4 „	„	.	7 „	5. 10. 7 p	6. 10. 7 a
21. 9.	„	„	1/4 „	„	21. 9.	2	15	1/4 „	„	.	7 „	5. 10. 7 p	6. 10. 7 a
21. 9.	„	„	1/4 „	„	21. 9.	2	15	1/4 „	„	.	7 „	5. 10. 7 p	6. 10. 7 a
21. 9.	rat 1	„	1/2 „	„	.	.	.	.	Témoin	.	.	6. 10. 7 a	7. 10. 11 a
21. 9.	„	„	1/2 „	„	.	.	.	.	„	.	.	6. 10. 7 a	7. 10. 11 a
Émulsion de l'encéphale de lapin													
10. 6.	rat 1	sous-cutanée	1/2 c. c.	Virus de rue	10. 6.	2	15	1 c. c.	Émulsion de l'encéphale de lapin (vaccine Fermi 5 %, ac. phenique 1 %)	.	30 c. c.	vive	
10. 6.	„	„	1/2 „	„	10. 6.	2	15	1 „	Idem	.	30 „	„	
10. 6.	„	„	1/2 „	„	10. 6.	2	15	1 „	„	.	30 „	„	
10. 6.	„	„	1/2 „	„	10. 6.	2	15	1 „	„	.	30 „	„	
10. 6.	„	„	1/2 „	„	10. 6.	2	15	1 „	„	.	30 „	„	
10. 6.	„	„	1/2 „	„	10. 6.	2	15	1 „	„	.	30 „	„	
10. 6.	„	„	1/2 „	„	.	.	.	.	Témoin	.	.	24. 6. 7 p	25. 6. 7 a

Generated on 2019-09-15 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

nique 1 % d'encéphale d'oie, morte d'infection de virus fixe, on sauvait 2 : 7, c'est-à-dire à peu près le 29 %.

L'expériences avec les résultats relatifs figurent dans les tableaux ci-après.

Des susdits tableaux on relève ce qui suit:

1) La substance nerveuse rabique de poulet et d'oie, dans l'émulsion à 5 % en acide phénique à 1 %, se montre presque inactive, parce que, injectée par voie sous-cutanée à les muscles infectés auparavant de virus de rue, à la proportion de deux injections par jour, pendant 15 jours, d'un centimètre cube, à des rats, et $^1/_4$ à des souris, seulement celle du poulet sauva le 5 % (20 % à peu près), celle des souris et celle de lioie 2 : 7 (29 % à peu près).

2) La substance nerveuse rabique de canard se montre totalement dépourvue du pouvoir immunisant, parcequ'on ne réussit à sauver aucun des 8 murides infectés et traités comme plus haut.

Si on devait expliquer cela avec le manque de germes rabiques ou avec le fait que la substance nerveuse, sur la quelle s'était développé le virus rabique était privée du pouvoir immunisant, on le verra plus tard.

L'étude du pouvoir immunisant de la salive rabique mêlie à des substances nerveuses normales douée du pouvoir d'immunisation (mammifères) comme aussi mêlée à la substance nerveuse normale d'animaux privée du pouvoir immunisant (canard) pourrait éclaircir cette importante question, comme aussi à exployer le mécanisme de l'immunisation rabique.

Nachdruck verboten.

Pouvoir immunisant et lyssicide des nucléo-protéides, des substances nerveuses et normales, des substances blanches et grises séparées, de la substance testiculaire, du jaune d'oeuf et des testicules du mouton.

Mécanisme de l'immunisation rabique.

IV. Note.

[Institut antirabique uni à l'Institut d'Hygiène de la Royale Université de Sassari.]

Par Prof. **Claudio Fermi.**

Avec la présente expérience[1]) j'ai mis en évidence le fait singulier que pendant que la substance nerveuse cérébro-spinale in toto des mammifères non seulement rabique mais aussi normale est douée pour les murides d'un fort pouvoir immunisant, les substances blanches et grises essayées séparatement sont presque privées du pouvoir immunisant, voici les résultats des mes expériences entreprises à ce propos.

1. Le mélange de la substance cérébrale blanche et grise d'un homme non rabique sauvait le 80 % des animaux infectés de virus de rue et par voie sous-cutanée, pendant que la substance blanche et grise essagée séparatement se montrait complètement inactive, en effet tous les murides immunisés tant avec l'une, qu'avec l'autre des substances moururent de rage.

2. Le mélange de la substance cérébrale blanche et grise de chien rabique (virus fixe) sauva le 70 % des animaux, pendant que la substance blanche et grise séparée ne sauva que 10 % respectivement 30 %.

---

1) Fermi, Claudio, Sopra una singolare, importante differenza esistente tra il potere antirabico della sostanza cerebrale in toto e quello delle sostanze bianca e grigia provate separatamente nei muridi.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3. Le mélange des deux substances cérébrales se comporta d'une manière identique, soit qu'il s'agissait de substance nerveuse normale ou bien de substance rabique. La légère supériorité que les deux substances séparées, c'est-à-dire la blanche et la grise, des animaux rabiques aurait montrée sur celle des animaux sains, doit être confirmée par d'autres recherches.

4. Le sérum de chien et de lapins immunisés avec la substance cérébrale humaine blanche, comme le sérum de chien immunisé avec la substance grise, ne réussit pas à sauver les souris d'une infection sous-cutanée de virus de rue, pratiquée 48 heures auparavant.

5. Également inactive se montre le mélange des deux séra susdits.

6. Au contraire très éfficace, comme à l'ordinaire, fut le virus de chien, immunisé avec les deux substances mélangées, même si elles avaient été injectées 48 heures après l'infection sous-cutanée de virus fixe.

Préparation des nucléo-protéides: Selon la méthode de Marie.

1. On prépare une émulsion au 10 % de substance nerveuse de jaune d'œuf et de testicules dans l'eau distillée.
2. On ajoute $^1/_2$ c.c. d'acide acétique.
3. On agite et le centrifuge.
4. On réprend le reste avec 40 c.c. d'eau.
5. On ajoute 1 c.c. d'acide acétique et l'on filtre.
6. On précipite moyennant la neutralisation avec le chlorure de soude (20 %).
7. On filtre, neutralise et on dyalise.

Ensuite on essaye le pouvoir immunisant des nucléo-protéides obtenus sur des rats qui auparavant avaient reçu par voie sous-cutanée le virus de rue, et le pouvoir lyssicide en les mettant en contacte pendant 24 heures en quantites différentes avec 1 c.c. d'une émulsion centésimale de virus fixe et en injectant $^1/_4$ de c,c. sous la peau des souris.

A. Pouvoir immunisant.

a) Nucléo-protéides de substance nerveuse rabique.

Expérience I. A des rats infectés auparavant de virus de rue par voie sous-cutanée, on pratique deux injections par jour, pendant 15 jours, d'un c.c. d'émulsion de nucléo-protéides de substance nerveuse rabique (virus fixe) filtrés à la chandelle de Chamberland, en injectant ensuite, en tout, 30 c.c. d'émulsion.

Expérience II. On répète l'expérience précédente en pratiquant des injections de 2 c.c. chacune, en injectant ainsi en tout 60 c.c. de la dite émulsion.

b) Nucléo-protéides de substance nerveuse normale.

Expérience I. A des rats infectés auparavant de virus de rue par voie sous-cutanée on pratique deux injections par jour pendant 15 jours d'un c.c. d'émulsion de nucléo-protéides de substance nerveuse normale (encéphale d'agneau sain) en injectant en tout 30 c.c. d'émulsion.

Expérience de contrôle. Pour contrôle on infecte sans les traiter, des rats de virus de rue, par voie sous-cutanée.

Les expériences avec les résultats relatifs figurent dans les tableaux ci-après.

Résultats: Voici les résultats de ces tableaux.

1. Qu'aux émulsions au 5 % phéniquées au 1 % de nucléo-protéides de substances nerveuses rabiques injectées à la proportion de 2 injections par jour, pendant 15 jours, d'une anse, en injectant en tout 30 c.c. d'émulsion survivait seulement un des deux rats (50 % à peu près).

2. Qu'en pratiquant au contraire des injections de 4 c.c. en injectant en tout 60 c.c., on sauvait tous les rats (100 % à peu près).

3. Qu'une émulsion de nucléo-protéides de substance nerveuse normale d'encéphale d'agneau injectée dans la proportion de 2 injections par jour, pendant 15 jours, d'une anse, en injectant en tout 30 c.c. d'émulsion sauva 5:6 des rats, infectés auparavant de virus de rue, par voie sous-cutanée (c'est-à-dire 83 % à peu près).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Pouvoir immunisant de l'émulsion 5% dans le nucléo-protéide de virus fixe.

Date	Animaux	Voie d'infection	Quantité injectée	Virus infectant	Date de l'immunisation	No. des injections par jours	No. de jours d'immunisation	Quantité par injection	Substance immunisante	Poids de l'animal	Quantité injectée	Date de la paralyse	Date de la mort
29. 2.	rat 1	sous-cutanée	1/2 c. c.	Virus de rue	1. 3.	2	15	1 c. c.	Nucléo-protéide 5% acide phénique 1% filtrée au papier et à la candèle Chamberland	.	12 c. c.	7. 3. 7 p	8. 3. 7 a
	„ 1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	20 „	vive	
29. 2.	„ 1	sous-cutané	1/2 „	Virus de rue	1. 3.	2	15	2 c. c.	.	.	60 c. c.	vive	
	„ 1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	60 „	„	
29. 2.	„ 1	sous-cutanée	1/2 „	Virus de rue	.	.	.	.	Témoin	.	.	16. 3. 7 a	17. 3. 7 a

Pouvoir immunisant du nucléo-protéide de substance nerveuse normale (agneau).

Date	Animaux	Voie d'infection	Quantité injectée	Virus infectant	Date de l'immunisation	No. des injections par jours	No. des jours d'immunisation	Quantité par injection	Substance immunisante	Poids de l'animal	Quantité injectée	Date de la paralyse	Date de la mort
6. 5.	rat 1	sous-cutanée	1/2 c. c.	Virus de rue	6. 5.	2	15	1 c. c.	Nucléo-protéide 5% acide phénique 1%	.	30 c. c.	23. 5. 7 a	24. 5. 3 p
	„ 1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30 „	23. 5. 7 a	24. 5. 3 p
	„ 1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30 „	23. 5. 7 a	24. 5. 3 p
	„ 1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30 „	23. 5. 7 a	24. 5. 3 p
	„ 1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30 „	23. 5. 7 a	24. 5. 3 p
	„ 1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30 „	23. 5. 7 a	24. 5. 3 p
6. 5.	„ 1	sous-cutanée	1/2 c. c.	Virus de rue	.	.	.	.	Témoin	.	.	17. 5. 7 a	18. 5. 4 p
	„ 1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	17. 9. 7 a	18. 9. 3 p

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Date	Animaux	Voie d'infection	Quantité injectée	Substance infectante	Poids de l'animal	Résultat	
						Commencement de la paralyse	Date de la mort
Pouvoir lyssicide du nucléo-protéide de substance nerveuse normale (Agneau).							
29. 2. 1912	souris 1	sous-cutanée	$^1/_4$ c. c.	Virus fixe 1 % 1 c. c. + nucléo-protéide contact 24 h. $^1/_{10}$ c. c.		6. 3. 7 a.	8. 3. 7 p.
„	„ 1	„	„	V. f. + n.-prot. $^2/_{10}$ c. c.		vive	
„	„ 1	„	„	„ + „ $^3/_{10}$ „		„	
„	„ 1	„	„	„ + „ $^4/_{10}$ „		mort depuis 4 jours	
„	„ 1	„	„	„ + „ $^5/_{10}$ „		vive	
„	„ 1	„	„	„ + „ $^6/_{10}$ „		„	
„	„ 1	„	„	„ + „ $^7/_{10}$ „		„	
„	„ 1	„	„	„ + „ $^8/_{10}$ „		„	
„	„ 1	„	„	„ + „ $^9/_{10}$ „		„	
„	„ 1	„	„	„ + „ 1 c. c.		„	
7. 5.	„ 1	„	„	Virus fixe 1 % 1 c. c. + nucléo-protéide (agneau 5 %) contact 24 h.		14. 5. 8 a. vive	14. 5. 6 p.
„	„ 1	„	„	Idem		14. 5. 8 a. vive	„
„	„ 1	„	„	„			
„	„ 1	„	„	V. f. + n.-prot. $^5/_{10}$ c. c.		14. 5. 8 a.	„
„	„ 1	„	„	Idem		„	„
„	„ 1	„	„	V. f. + n.-prot. 1 c. c.		14. 5. 8 a.	„
„	„ 1	„	„	Idem		vive	
Pouvoir lyssicide du nucléo-protéide de substance blanche et grise de bœuf.							
10. 4.	souris 1	sous-cutanée	$^1/_4$ c. c.	Virus fixe 1 % 1 c. c. + nucléo-protéide de s. grise $^5/_{10}$ c. c. contact 24 h.		16. 4. 10 a.	17. 4. 11 a.
„	„ 1	„	„	V. f. + n.-prot. $^5/_{10}$ c. c. depuis 24 h.		„	„
„	„ 1	„	„	V. f. + n.-prot. 1 c. c. depuis 24 h.		„	„
„	„ 1	„	„	Virus fixe 1 % 1 c. c. + nucléo-protéide de substance blanche $^5/_{10}$ c. c. depuis 24 h.		„	17. 4. 9 a.
„	„ 1	„	„	V. f. + n.-prot. $^8/_{10}$ c. c.		„	„
„	„ 1	„	„	„ + „ 1 c. c.		16. 4. 7 a.	„
„	„ 1	„	„	Témoin		,	17. 4. 12 a.
Pouvoir lyssicide du nucléo-protéide de substance blanche et grise normale (agneau bœuf).							
7. 5.	souris 1	sous-cutanée	$^1/_4$ c. c.	Virus fixe 1 % 1 c. c. + nucléo-protéide de substance blanche (bœuf) $^5/_{10}$ c. c.		14. 5. 7 a.	14. 5. 7 p
„	„ 1	„				„	„
„	„ 1	„	„	V. f. + n. prot. 1 c. c.		„	„
„	„ 1	„	„			„	„
„	„ 1	„	„	Virus fixe 1 % 1 c. c.		„	„
„	„ 1	„	„	+ nucléo-protéide de substance gris (bœuf) $^5/_{10}$ c. c.		„	„
„	„ 1	„	„	V. f. + n.-prot. 1 c. c.		„	„
„	„ 1	„	„	Idem		„	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Date	Animaux	Voie d'infection	Quantité injectée	Substance infectante	Poids de l'animal	Résultat	
						Commencement de la paralyse	Date de la mort
Pouvoir lyssicide du nucléo-protéide du jaune d'œuf.							
18. 3. 1912	souris 1	sous-cutanée	$^1/_4$ c. c.	Virus fixe 1 % 1 c. c. + nucléo-protéide $^1/_{10}$ c. c. contact 24 h.		23. 3. 7 a.	24. 3. 7 a.
„	„ 1	„	„	V. f. + n.-prot. $^2/_{10}$ c. c.		„	„
„	„ 1	„	„	„ + „ $^3/_{10}$ „		mort depuis 48 h.	
„	„ 1	„	„	„ + „ $^4/_{10}$ „		„	„
„	„ 1	„	„	„ + „ $^5/_{10}$ „		24. 3. 7 p.	25. 3. 7 a.
„	„ 1	„	„	„ + „ $^6/_{10}$ „		„	„
„	„ 1	„	„	„ + „ $^7/_{10}$ „		24. 3. 7 a.	24. 3. 7 p.
„	„ 1	„	„	„ + „ $^8/_{10}$ „		„	25. 3. 11 a.
„	„ 1	„	„	„ + „ $^9/_{10}$ „		mort depuis 48 h.	
„	„ 1	„	„	„ + „ 1 c. c.		„	„
Pouvoir lyssicide du nucléo-protéide de testicules du bélier.							
29. 3. 1912	souris 1	sous-cutanée	$^1/_4$ c. c.	Virus fixe 1 % 1 c. c. + nucléo-protéide $^1/_{10}$ c. c. contact 24 h.		4. 4. 12 a.	5. 4. 10 a.
„	„ 1	„	„	V. f. + n.-prot. $^2/_{10}$ c. c.		„	„
„	„ 1	„	„	„ + „ $^3/_{10}$ „		4. 4. 3 p.	5. 4. 8 a.
„	„ 1	„	„	„ + „ $^4/_{10}$ „		„	„
„	„ 1	„	„	„ + „ $^5/_{10}$ „		5. 4. 3 p.	5. 4. 7 p.
„	„ 1	„	„	„ + „ $^6/_{10}$ „		„	„
„	„ 1	„	„	„ + „ $^7/_{10}$ „		5. 4. 7 p.	6. 4. 8 a.
„	„ 1	„	„	„ + „ $^8/_{10}$ „		„	„
„	„ 1	„	„	„ + „ $^9/_{10}$ „		„	6. 4. 9 a.
„	„ 1	„	„	„ + „ 1 c. c.		5. 4. 7 a.	6. 4. 10 a.

B. Pouvoir lyssicide.

a) **Nucléo-protéides de substance nerveuse normale (agneau) in toto.**

Recherche: À des souris on injecte sous la peau $^1/_4$ d'anse d'un mélange d'un c.c. d'une émulsion centésimale de virus fixe + $^1/_{10}$ g, $^2/_{10}$, $^3/_{10}$, $^4/_{10}$, $^5/_{10}$, $^6/_{10}$, $^7/_{10}$, $^8/_{10}$, $^9/_{10}$, 1 c.c. d'une émulsion 5 % de nucléo-protéides.

Comme ci-dessus.

b) **Nucléo-protéides de substance blanche et grise (d'encéphale de boeuf).**

Recherche I. À des souris on injecte par voie sous-cutanée $^1/_4$ de c.c. d'un mélange d'un c.c. d'une émulsion centésimale de virus fixe + $^5/_{10}$—1 c.c. d'une émulsion 5 % de nucléo-protéides de la substance blanche, d'encéphale de boeuf.

Recherche II. À des souris on injecte par voie sous-cutanée $^1/_4$ de c.c. d'un mélange d'un c.c. d'une émulsion centesimale de virus fixe + $^5/_{10}$—$^8/_{10}$—1 c.c. d'un émulsion 5 % de nucléo-protéides de la substance grise d'encéphale de boeuf.

Répétition des expériences ci-dessus décrites.

Nucléo-protéides de substance blanche et grise (d'encéphale de boeuf).

Recherche I. À des souris on injecte par voie sous-cutanée $^1/_4$ de c.c. d'un mélange d'un c.c. d'une émulsion centésimale de virus fixe + $^5/_{10}$—$^8/_{10}$—1 c.c. d'une émulsion 5 % de nucléo-protéides de la substance blanche d'encéphale de boeuf.

Recherche II. À des souris on injecte par voie sous-cutanée $^1/_4$ c.c. d'un mélange d'un c.c. d'émulsion centésimale de virus fixe + $^5{}_{10}$—$^8/_{10}$—1 c.c. d'une émulsion 5 % de nucléo-protéides de la substance grise d'encéphale de boeuf.

C. Pouvoir lyssicide de nucléo-protéides du jaune d'oeuf de poulet et de testicules de mouton.

Comme contrepreuve j'ai voulu faire la comparaison du pouvoir lyssicide du nucléo-protéide de la substance nerveuse avec celui de substance et d'autre organes. Je choisis à tel effet le jaune d'oeuf et les testicules de mouton, tous les deux riches en substance

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lipoides et le jaune d'oeuf surtout parce qu'il est doué (comme j'ai démontré) d'un certain pouvoir antirabique sur les murides.

a) Nucléo-protéides du jaune d'oeuf.

Recherche. À des souris on injecte par voie sous-cutanée $^1/_4$ de c.c. d'un mélange d'un c.c. d'une émulsion centésimale de virus fixe + $^1/_{10}$, $^2/_{10}$, $^3/_{10}$, $^4/_{10}$, $^5/_{10}$, $^6/_{10}$, $^7/_{10}$, $^8/_{10}$, $^9/_{10}$ d'une émulsion 5 % de nucléo-protéides du jaune d'oeuf.

b) Nucléo-protéides de testicules de mouton.

À des souris on injecte par voie sous-cutanée $^1/_4$ de c.c. d'un mélange d'un c.c. d'une émulsion centésimale de virus fixe + $^1/_{10}$, $^2/_{10}$, $^3/_{10}$, $^4/_{10}$, $^5/_{10}$, $^6/_{10}$, $^7/_{10}$, $^8/_{10}$, $^9/_{10}$ d'une émulsion 5 % de nucléo-protéides de testicules de mouton.

Expérience de contrôle. On injecte par voie sous-cutanée sans les traiter à des souris $^1/_4$ de c.c. de virus fixe.

L'expérience avec les résultats figurent dans les tableaux ci-après.

Résultats.

Il résulte de ce tableau ce que suit:

1. Que le nucléo-protéide obtenu de la substance nerveuse encéphalique normale d'agneau, in toto, dans une première cxpérience démontre un pouvoir lyssicide capable, déjà à la dose de $^2/_{10}$, de rendre inactif sub cute, dans les souris, un c.c. d'une émulsion de virus fixe à 1 %.

Dans une seconde expérience au contraire il se montre actif et aussi incomplètement dans la dose de 5 %.

2. Que le nucléo-protéide obtenu de la substance blanche et grise separée, soit de l'encéphale d'agneau, soit du boeuf se montrait complètement privé du pouvoir lyssicide, parce que aussi à parties égales (1 c.c.) il ne réussit pas à neutraliser l'émulsion du virus fixe 1 %.

3. Que également privés du pouvoir lyssicide se montraient aussi le nucléo-protéides de jaune d'oeuf de poulet et des testicules de mouton.

En concluant donc on peut dire qu'en expérimentant avec les nucléo-protéides se confirmerait le fait singulier que j'ai déjà démontré, de la grande différence qui existe entre le pouvoir antirabique de la substance nerveuse encéphalique rabique ou normale des mammifères in toto et celui de la substance blanche et de la substance grise séparée.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

The reciprocal relations of virulent and attenuated cultures in active immunization[1]).

By **Philip B. Hadley.**

In the year 1880 Pasteur[2]) reported the results of his experiments in inoculating fowls with attenuated cultures of the fowl cholera bacterium. It was shown that, in Pasteur's laboratory, a virulent culture became attenuated after some months exposure to air; two months exposure determined, according to Pasteur, a complete loss of virulence, while exposure for briefer periods caused proportionate degrees of attenuation. By such treatment Pasteur produced vaccines of two grades, "premier et deuxième vaccin", and these, when inoculated successively under the skin of the breast of fowls, protected many individuals against a subsequent inoculation with the unattenuated culture. Sometimes it was necessary to inoculate the fowls several times before protection resulted. In most cases the inoculation produced varying degrees of necrosis in the breast muscle and frequently the birds became ill. By the use of this method Pasteur was not able to immunize either rabbits or small birds.

These results were of the greatest theoretical importance; they served as the starting point for all Pasteur's brilliant work on active-immunization. These early experiments on cholera in fowls have become classical; and yet, notwithstanding the great historical and practical importance of Pasteur's original observations, a most remarkable situation with reference to this subject has arisen. Not only have Pasteur's results never been confirmed, but a whole series of investigators, including Cagny[3]), Hess[4]), Kitt[5]), Voges[6]) and others, have failed to obtain similar results when following what they assumed to be the same method. No investigator has reported success in these attempts, and Voges[6]) goes so far as to make the following statement:

> „Wir haben diese Arbeit begonnen mit den Mitteilungen über die Entdeckung des Hühnercholerabacillus von Perroncito und dem Schutzimpfungsverfahren Pasteurs gegen diese Seuche. Pasteurs geniale Beobachtungen und der glänzende Name dieses Autors schienen uns ein günstiges Omen für das Gelingen unseres Unternehmens. Jetzt am Schlusse der Arbeit müssen wir uns wundern, daß Pasteur

1) Contribution 214 from the Agricult. Experim. Stat. of the Rhode Island State College, Kingston, R. I., U. S. A.

2) Sur les maladies virulentes et en particulier sur la maladie appelée vulgairement choléra des poules. — Sur le choléra des poules, études de conditions de la non-recidive de la maladié et des quelques de ses autres charactères. De l'atténuation du virus du choléra des poules. (Compt. rend. Acad. Scienc. 1880. p. 239, 673, 952, 1030; also Rec. Méd. vét. 1880. p. 91, 125, 419, 422, 1062.)

3) Cagny, Rec. Méd. vét. (Alfort). 1885. p. 130.

4) Hess, Schutzimpfung gegen Cholera der Hühner, auch Hühnerpest genannt. (Schweiz. Arch. f. Tierheilk. Bd. 28. 1886. p. 3.)

5) Kitt, Th., Septikämie der Vögel (Hühnercholera). (Handb. d. pathogen. Mikroorganism. von Kolle u. Wassermann.) Jena (G. Fischer) 1903.

6) Voges, O., Kritische Studien und experimentelle Untersuchungen über die Bakterien der hämorrhagischen Septikämie und die durch sie bewirkten Krankheitsformen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 23. 1896. p. 149—264.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gerade diejenige Erkrankung für den Aufbau und als Fundament für die ganze Lehre der Immunität ergriff, bei welcher, soweit unsere Erfahrungen in Frage kommen, keine Immunität erzeugt wird."

This statement doubtless expresses the commonly accepted view regarding the practical value of Pasteur's early experiments on immunization in fowl cholera, at least for all those investigators who have seriously undertaken a confirmation of his experiments. In the popular mind alone, they do not appear to have fallen into disrepute. Thus, while we may not doubt the veracity of Pasteur's observations, is it wholly apparent and truly remarkable that, in the third of a century that has elapsed, his results have not been confirmed.

In an earlier publication the present writer [1]) reported a method for the active-immunization of rabbits with living, avirulent cultures of the fowl cholera bacterium, at once simple in procedure and both efficient and constant in results. These results appear to be in a measure, both a confirmation and an extension of Pasteur's original conclusions. They confirm Pasteur's work in so far as they demonstrate the actual existence of a living attenuated culture with immunizing power; they extend his results in so far as they show the possibility of active-immunization in rabbits and guinea-pigs. The investigations previously reported may be summarized as follows:

Among nine strains of the fowl cholera bacterium examined biologically for their resistance-producing power, one was found (Culture 52) which was capable, when inoculated subcutaneously, in amounts of at least 0.00000001 c. c., of producing, within one to two weeks, a perfect immunity against as much as 3 c. c. of the most virulent culture obtainable (Culture 48) [2]). The inoculation with Culture 52 was followed, within two to four days, by an induration which later became necrotic and eventually underwent drainage, followed by healing.

That the resistance in question was not local or "zonal" was shown by inoculating protected rabbits in the ear, flank or back; also by intravenous and intraperitoneal inoculations, none of which were fatal.

The smallest amount of Culture 52 yet employed to produce immunity in rabbits is 0.00000001 c. c.; but amounts as large as 3 c. c. were easily tolerated by adult rabbits, and gave similar results. In protectively-inoculated rabbits a slight resistance was manifested within two to four days (evinced by delaying the fatal issue), but complete immunity appeared in no case earlier than the seventh day after the inoculation with Culture 52.

Complete immunity to the virulent Culture 48 has been found to endure for over three years, and is, in all probability, permanently acquired.

The simultaneous inoculation of Culture 52 (amounts from 0.001 c. c. to 1 c. c.) and Culture 48 (0.001 c. c.) proved fatal in all cases; but the inoculation of 0.5 c. c. of Culture 52 prevented a fatal termination when inoculated simultaneously with 0.000000001 c. c. of Culture 48.

The natural resistance possessed by guinea-pigs to the bacterium of fowl cholera can be so raised by subcutaneous inoculation with Culture 52, that both subcutaneous inoculation and intraperitoneal inoculations with the virulent culture are easily tolerated.

In a few preliminary tests pigeons and fowls have been endowed with a moderate degree of resistance as a result of either subcutaneous or intramuscular inoculations with the immunizing strain.

Immunity brought about by inoculation with Culture 52 is inherited: Female rabbits are able to transmit to their offspring a high degree of resistance for at least two and a half years after the date of their immunization. The resistance of the offspring is not permanent, enduring for not more than forty days, but it can be transformed into a durable active resistance by inoculating the young animals sometime during the first forty days of life with small amounts of virulent culture [3]).

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 69. 1913. p. 271.

2) The M. L. D. of this culture for rabbits was found to be from one to four organisms inoculated subcutaneously.

3) For a detailed statement of these results, see R. I. Agric. Exp. Stat. Bull. 150. 1912 and Bull. 157. 1914.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In these cases, the test of immunity was usually inoculation with virulent Culture 48, a strain possessing maximum virulence. There exist in nature, one might believe, many different virulent strains of the fowl cholera bacterium and many that are non-virulent; the question is naturally raised whether Culture 52, which first proved effective in immunization against Culture 48, would also create resistance against other virulent strains. During the past two years opportunity has been offered through the acquisition of new cultures, to put this matter to test. In addition, a continued study has been made of the immunizing ability of other non-virulent or slightly virulent cholera cultures obtained since the results reported in Bulletin 150[1]). It is therefore the aim of this paper to present data on both these subjects. Unless otherwise indicated, the cultures were grown for 48 hours in beef or chicken broth at 37° C. and the inoculations made subcutaneously in the abdomen.

I. Protection afforded by the avirulent cultures.

In this section are considered the nine avirulent or slightly virulent strains, 45, 63, 65, 66, 67, 69, 84, 96, 97; also the non-typical cholera-like cultures 81, 82 and 85[2]). Culture 45 is re-tested.

Culture 45. — On July 2, 1914, a half-grown rabbit was inoculated with 0.1 c.c. of Culture 45. Infiltration, abscess and drainage followed. On July 8, this animal received 0.01 c.c. of Culture 48. Death followed in about 14 hours, a control dying in the same time. No protection resulted from this inoculation with Culture 45.

Culture 63. — On July 2, 1914, a half-grown rabbit was inoculated with 0.1 c.c. of Culture 63. There was no reaction and on July 8, the same animal was re-inoculated with 0.01 c.c. of Culture 48. Death followed in about 38 hours, a control animal (1143) dying in about 14 hours. Apparently Culture 63 possesses practically no protective value against virulent Culture 48. The prolonging of the fatal termination in the treated rabbit is probably not significant. In fact the absence of local reaction after the first inoculation suggested that too small an amount of culture had been injected. For this reason the test was repeated as follows:

On July 23, 1914, a half-grown rabbit (1149) was inoculated with 0.1 c.c. of Culture 63. Abscess and drainage followed. On July 31, this animal was inoculated with 0.01 c.c. of Culture 48. Death followed in 20 hours. Culture 63 furnished no resistance.

Culture 65. — On May 19, 1914, a three-fourths-grown rabbit (1096) was inoculated with 0.1 c.c. of Culture 65. Abscess and drainage followed. On July 2, 1914, this animal received 0.01 c.c. of Culture 48 and died in 16 hours, a control rabbit (1130) which received the same amount dying in 15 hours. Apparently Culture 65 had no protective action against infection with Culture 48.

Culture 66. — On August 2, 1912, a rabbit (827) was inoculated with 1 c.c. of Culture 66. On the same date an adult fowl (827 A) received the same amount deep in the pectoral muscles. The inoculations were repeated on August 15, the same amount of culture being used. On September 25, 1912, the fowl received 0.1 c.c. of Culture 48 and experienced no ill effects. A control rabbit (869), receiving 0.001 c.c. subcutaneously, died in about 14 hours. Unfortunately the other rabbit was not inoculated at this time, but when it was inoculated December 17, 1913, with 0.1 c.c. of Culture 48, death followed in 13 hours. Apparently Culture 66 has no protective value.

Culture 67. — On August 16, 1912, an adult rabbit (860) was inoculated with 0.1 c.c. of Culture 67. On December 17, 1913, the same rabbit received 0.1 c.c. of

1) At that time (1912) nine different cultures had been tested (16, 42, 45, 46, 47, 50, 51, 52, and 54). Of these, several were pathogenic for young or half-grown rabbits (45, 47), and all produced local abscesses upon inoculation, but none were fatal for adult rabbits. Of these nine, Culture 52 was the only one that conferred sufficient resistance to protect against large doses of virulent Culture 48. One possible exception to this was Culture 45 which, in one instance, appears to have extended the fatal termination from 18 hours (which is about the average) to $6^1/_2$ days; and Culture 54 which extended the period (one case only) to $3^1/_2$ days. A repeated test of Culture 45, however, reported in this paper indicated no immunizing power.

2) See p. 446.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Culture 48, and remained alive, while the control rabbit (1051) died in 12 hours. Apparently some degree of protection had been afforded by the earlier inoculation with Culture 67 and this resistance had endured through a period of one year and four months. Unfortunately since Culture 67 was lost shortly after the above test was made this result could not be confirmed.

Culture 69. — On May 13, 1914, an adult rabbit (1112) was inoculated with 1 c. c. of a 24-hour culture of Strain 69. On May 14 an infiltration had formed at the point of inoculation. On May 18, this had become necrotic and drained. On July 2, 0.01 c. c. of Culture 48 was injected, a control rabbit (1130) being inoculated with the same amount. The principal died in 19 hours, the control in 15.

The test was repeated as follows: On May 19, 1914, a three-fourths-grown rabbit (1097) was inoculated with 0.1 c. c. of Culture 69; abscess and drainage followed. On July 8 this animal received 0.01 c. c. of Culture 48, a control (1143) being inoculated with the same amount. The principal died in 16 hours, the control in 14. From these data it is clear that inoculation with Culture 69 afforded no protection against virulent Culture 48.

Culture 84. — This strain, when first tested showed weak virulence and is therefore listed among the virulent cultures considered in the second portion of this paper. Subsequently, however, even this slight virulence was lost and for this reason it may also be regarded in the present section as a possible immunizing culture. But one test against Culture 48 was made. On July 2, 1914, rabbit 1136 was inoculated with 0.1 c. c. of Culture 84. Abscess and drainage followed on July 6. On July 13, the rabbit was tested with 0.01 c. c. of Culture 48 and died in about 16 hours. It thus appears that inoculation with Culture 84 furnished no resistance[1]).

Culture 96. — On June 11, 1914, an adult rabbit (1126) was inoculated subcutaneously with 0.1 c. c. of a bouillon culture of Strain 96. On June 17, there was a marked infiltration; an abscess formed and drainage took place June 26. On July 2, this animal was inoculated with 0.01 c. c. of Culture 48. Death followed in 15 hours, the control rabbit (1130) dying in the same time. Culture 96 thus appeared to have no protective value against virulent Culture 48.

Culture 96 was obtained in April 1914 from Král's Laboratory where it was maintained as the reported cause of a "Kanarienseuche". Upon morphological and cultural study, it appeared to show the typical features of the fowl cholera bacterium and is undoubtedly a member of this group.

Culture 97. — On June 11, 1914, an adult rabbit (1127) was inoculated subcutaneously with 0.1 c. c. of Culture 97. A slight swelling resulted and in a short time followed the usual course of necrosis and drainage. On July 2, this rabbit was inoculated with 0.01 c. c. of Culture 48, a control animal (1130) receiving the same amount. Both animals died in 15 hours, demonstrating the absence of protective value in Culture 97.

Culture 97 was obtained in April 1914 from Král's Laboratory where it was maintained as Bact. phasianicida (Klein). As was the case with Culture 96, this bacterium resembled culturally the fowl cholera type, although in size it was slightly larger. In all probability it belongs to the fowl cholera group. Neither culture possessed virulence at the time of their acquisition.

Culture 81. — Among the known cholera cultures maintained in the laboratory collection, there was one which, though isolated from a cholera-like disease in poultry occurring in Rhode Island, departed widely from the fowl cholera type, especially with respect to its action on milk and on the fermentable sugars. This culture was, nevertheless, tested for its immunizing power against virulent Culture 48. The data are as follows:

On May 27, 1914, a half-grown rabbit (1120) was inoculated with 1 c. c. of Culture 81. Abscess and drainage followed. On July 8, this animal was inoculated with 0.01 c. c. of Culture 48. Death followed in about 14 hours, as in the control rabbit (1143). No protection had resulted from the earlier inoculation with Culture 81.

Culture 82. — On August 25, 1913, an adult rabbit (1029 A) was inoculated with 0.1 c. c. of a 25-hour bouillon culture of Strain 82, supposed at the time to belong to the fowl cholera group. On August 29, there was an infiltration the size of a marble. On September 4, an abscess had formed and drained, and the wound had closed. On December 17, 1913, this animal was injected with 0.1 c. c. of a 24-hour bouillon culture of Strain 48. Death followed in 13 hours, as in the control (1051). No appreciable resistance had been conferred by inoculation with Culture 82.

Culture 82 was obtained in August 1913 from Král's Laboratory where it was known as the "Würtzburg Strain" of the fowl cholera bacterium. Virulence tests on

1) For other data on Culture 84, see p. 450, second section of this paper.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:14 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

a rabbit (1029 A) and a pigeon (1089) were negative; the rabbit developed an abscess which drained and healed naturally. Subsequent to this, the cultural features of Culture 82 were submitted to a thorough study. In brief, it appeared that the Würtzburg Strain could not be classed with the fowl cholera type, and hence in any case, could scarcely be expected to develop immunity toward actual fowl cholera bacteria.

Culture 85. — On August 25, 1913, a rabbit (1032 A) was inoculated with 0.1 c. c. of a 24-hour bouillon culture of Strain 85. On August 29, the infiltration was slight and no abscess had formed. No change had taken place on September 4. On September 14, nearly three weeks after inoculation, the animal died, presumably as a result of the inoculation. It thus appeared that Culture 85 possessed an intermediate virulence.

A further test was made as follows: On December 4, 1913, an adult fowl (1049), a pigeon (1050), two adult rabbits (1052, 1053), and one guinea-pig (1054) were inoculated with Culture 85, in the following amounts respectively: 1 c. c., 1 c. c., 2 c. c., 2 c. c., and 2 c. c. In rabbit 1052, no infiltration was produced; in rabbit 1053, a small hard infiltration was apparent on the fifth day after inoculation, but this was reabsorbed without becoming necrotic. All the animals mentioned above, together with one control rabbit (1051), were inoculated (birds, intramuscular; rabbits and guinea-pigs, subcutaneous) on December 17, 1913, with 0.01 c. c. of Culture 48. The fowl and the pigeon died in less than 24 hours. The two rabbits died in 14 hours while the guinea-pig proved refractory [1]).

Culture 85 was obtained from Král's Laboratory in August 1913, where it was known as the Ficker Strain of the fowl cholera bacterium. Virulence tests were made as follows:

Rabbit	subcutaneous	0.1 c. c.	lives
Rabbit	subcutaneous	2.0 c. c.	lives
Rabbit	intravenous	1.0 c. c.	lives
Rabbit	intraperitoneal	1.0 c. c.	lives
Pigeon	intramuscular	1.0 c. c.	lives
Fowl	intramuscular	1.0 c. c.	lives
Fowl	by feeding	10.0 c. c.	lives.

In rabbits the infiltrations were always small and frequently no abscess was formed.

These tests indicated that the culture possessed practically no virulence and no immunizing power and when subsequently the cultural features were studied in detail, it was found that Culture 85, as was the case with Culture 82, did not belong to the fowl cholera type. The fact, however, that in Král's Laboratory, Cultures 82 and 85 had been classed as fowl cholera organisms suggests that there exist in Europe diseases clinically similar to fowl cholera but characterized by a different etiology. Obviously, in these cases, no resistance against infection with Culture 48 could have been expected.

Summarized statement regarding the immunizing value of the non-virulent strains. — During the past four years, seventeen strains of the fowl cholera bacterium have been tested for their immunizing power against virulent Culture 48. Of these avirulent cultures, nine were reported in former publications [2]) [3]) and the results need be only summarized here. The cultures mentioned were Strains 16, 42, 45, 46, 47, 50, 51, 52 and 54. Of these nine cultures, one only, Culture 52 possessed the ability regularly to produce immunity in the inoculated animals.

Of the later series of cultures, eight have been mentioned in the foregoing pages, — viz., Cultures 63, 65, 66, 67, 69, 84, 96 and 97; also the non-typical cultures of questionable position, 81, 82 and 85; also,

1) This does not necessarily imply that this animal had been rendered immune by the previous inoculation with Culture 85, since nearly all guinea-pigs are resistant to large doses of virulent cholera cultures when administered subcutaneously; intraperitoneal inoculations are fatal.

2) Rhode Island Agric. Exp. Stat. Bull. 150. 1912.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 69. 1913. p. 271—311.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Culture 45, mentioned in the former series, but re-tested at this time. Of these eleven new cultures, only one, Culture 67, showed protective value, and since this culture was lost the circumstance cannot now be verified by a confirmatory test.

Up to the present time, therefore, a total of twenty virulent strains (including the atypical and doubtful cultures, 81, 82 and 85), have been tested for their immunizing power. Of these, one only, Culture 52, has been fully demonstrated to possess this immunizing ability as a constant and never-varying characteristic. This strain may therefore be regarded as unique and in the following section will be considered the relation of this immunizing culture to certain strains which, in contrast to the cultures mentioned in the present section, possessed a high degree of virulence for fowls, pigeons, rabbits and other laboratory animals.

II. Protection afforded by Culture 52 against other virulent strains than Culture 48.

Under this head are considered infections with the twelve virulent Cultures 60, 61, 62, 64, 68, 70, 71, 72, 73, 83, 84 and 91. Culture 84 is considered also in the former section.

Culture 60. — On January 22, 1912, an adult rabbit (799) received 1 c. c. of a suspension in broth of a 48-hour agar culture of Strain 52; abscess-formation and drainage followed. One week later, this rabbit received subcutaneously in the flank, 1 c. c. of a 48-hour agar culture of Strain 48 and lived. On February 13, the animal received subcutaneously 0.1 c. c. of Culture 60 and lived, while the two controls (777, 800) which were infected in the same manner and with the same amount of Culture 60, died in 15 and 14 hours respectively.

Obviously, from the result of this experiment, one can conclude that the protection against Culture 60 may have resulted from the combined action of Cultures 52 and 48, rather than from the action of Culture 52 alone. No further light can be thrown on this point since Culture 60 was lost soon after the tests reported above were made.

Culture 61. — On September 29, 1911, two rabbits (752, 753) received each 0.1 c. c. of a bouillon culture of Strain 52. Abscess-formation and drainage resulted. On December 1, both rabbits were inoculated with 0.000001 c. c. of Culture 48, and were immune, the control guinea-pig (698) inoculated intraperitoneally with 0.1 c. c. of Culture 48 dying in 39 hours.

Fifteen weeks after the inoculation with Culture 52, both the surviving rabbits, together with one control rabbit (756) were inoculated with 0.1 c. c. of a broth culture of Strain 61. The two immunized rabbits lived, while the control died in about 30 hours.

This experiment was repeated as follows: Two adult rabbits (681, 683) were inoculated on August 18, 1911, with 0.01 c. c. and 0.0001 c. c. of Culture 52. In each, at the site of inoculation (abdomen) there developed an abscess which underwent natural drainage. On September 22, both rabbits, together with one control died in two and one-half days; the other animals lived. On August 7, 1912, these animals were inoculated again with 0.01 c. c. of Culture 48; small infiltrations developed and they still proved immune.

On August 15, 1912, these two rabbits, together with one control (856) were inoculated with 1 c. c. of Culture 61. While both survived, the control died in 14 hours.

Obviously, in these experiments, one can assume that the resistance against infection with Culture 61, might have been determined by the combined action of Cultures 52 and 48, rather than by Culture 52 alone. This point has not been further tested, since Strain 61 is no longer in the laboratory series of cultures.

Culture 62. — On February 25, 1914, an adult rabbit (1069) was inoculated with 0.1 c. c. of Strain 52. A typical abscess formed and underwent natural drainage. On April 15, 1914, this animal was inoculated with 0.1 c. c. of Culture 62. Death followed in 37 hours. A control pigeon inoculated in the breast muscle with the same amount, died in 27 hours. Other virulence tests were positive. In this instance it is apparent that the inoculation with Culture 52 on February 25 had practically no protective effect against Culture 62, a strain possessing fair virulence.

A further test was made as follows: On June 11, 1914, an adult rabbit (1125) nearly three years old, was inoculated with 0.1 c. c. of Culture 52. On June 17, the resulting infiltration had become necrotic and drainage took place on June 30. On

Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

July 2, this rabbit was infected with 0.1 c. c. of Culture 62, the material being inoculated several centimeters distant from the former lesion. A half-grown rabbit, serving as control (1137) was inoculated with the same amount. The principals lived, while the control died in 25 hours. In this case, protection appears to have resulted from inoculation with Culture 52. But in view of the difference between the results of the first and second tests, a third test was made as follows:

On July 2, 1914, a half-grown rabbit (1139) was inoculated subcutaneously with Culture 52 and typical abscess and drainage resulted. On July 8, this rabbit together with one control (1146) of the same size, age and weight, was inoculated with 0.1 c. c. of Culture 62. The principal died in about 24 hours, the control in 38.

From the data on the three tests presented above, it appears that the results in the employment of Culture 52 as an immunizing agent against Culture 62 are variable. With the exception of Culture 83, this is the only instance in the period covered by the present study, in which the results are not clear-cut. In all other cases, Culture 52 immunizes perfectly or it confers no appreciable resistance. In the case of Culture 62, it may prove that further tests will settle the point one way or the other. At the present time, however, it seems that the protective power of Culture 52 alone against Culture 62 is negligible except in the case of vigorous, well-matured animals.

The question now arises: Is the cumulative effect of an inoculation with, first, Culture 52, and later with Culture 48, sufficient to prevent fatal infection with Culture 62. The following experiment bears upon this point.

On September 29, 1911, an adult rabbit (754) was inoculated with 0.1 c. c. of Culture 52. Another rabbit (755) was inoculated July 28, 1911, with 2 c. c. of Culture 52 in broth, heated at 44° C for three hours. Both inoculations were followed by abscess-formation and drainage.

On December 1, 1912, the first rabbit (754) was inoculated with 0.000001 c. c. of Culture 48 while the second rabbit received 0.000000001 c. c. Both lived, while the control guinea-pig (intraperitoneal) died in 39 hours.

On January 11, 1912 (15 weeks after inoculation with Culture 52 in the case of the first rabbit and 6 months later in the case of the second), both rabbits together with one control (757) were inoculated with 0.1 c. c. of Culture 62. The first and second rabbits lived, while the control died in about 16 hours.

This test was repeated as follows: On July 17, 1911, two adult rabbits (588, 595) were inoculated, one with 2 c. c. of Culture 52 in broth, the other with 0.1 c. c. The usual abscess-formation and drainage resulted. On August 4, both animals received 0.000000001 c. c. of Culture 48 and both lived. On August 7, 1912, both were inoculated with 0.001 c. c. of Culture 48 and lived.

On August 15, 1912, these same rabbits and a control (857) received 1 c. c. of Culture 62 in broth. The principals lived, while the control died in 14 hours.

In these cases, as in the instance of Culture 61, it is permissible to believe that the inoculation with Culture 48 in addition to the inoculation with Culture 52, favored the production of perfect immunity against infection with virulent Culture 62, toward which Culture 52 alone does not always exert a protective action.

Culture 64. — On July 17, 1911, an adult rabbit (628) was inoculated with 2 c. c. of Culture 52. On August 25, 1911, this animal received 2 c. c. of Culture 48 while a control rabbit (629) received 0.000000001 c. c. of Culture 48. Rabbit 628 lived, while the control died in about 14 hours.

On March 28, 1912, rabbit 628, together with a control rabbit and a control pigeon (591, 592) received 1 c. c. of Culture 64. The controls died in about 13 hours, while rabbit 628 lived. Here it is apparent that the combined effect of the inoculations of Culture 52 and 48 was to afford protection against infection with Culture 64. Since this culture was lost, no opportunity was afforded to test it against Culture 52 alone.

Culture 68[1]. — On February 25, 1914, an adult rabbit (1070) was inoculated subcutaneously with 0.1 c. c. of Culture 52. On March 1, there was an abscess as large as a walnut; on March 3, this drained and soon healed. On June 11, the rabbit received subcutaneously 1 c. c. of Culture 68. There was no local reaction and the animal remained in good health. Unfortunately there was no control on this inoculation, although at the last previous inoculation of a pigeon with 0.1 c. c. of the same culture on May 14, 1914, the bird died in 13 hours, thus demonstrating high virulence. In order, however, more thoroughly to test the matter, rabbit 1070 was reinoculated on June 11, 1914, with 1 c. c of Culture 68. There was no reaction; the animal remained in good health.

Culture 71. — On July 17, 1911, a young rabbit (627) was inoculated with 2 c. c. of Culture 52. On July 26, an abscess had formed, was incised and drained.

1) From Král's Laboratory where it was known as the "Hanover Strain".

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Healing had taken place on August 25, 1911, and on this date this rabbit received 0.5 c. c. of Culture 48 and on August 2, 1912, 0.01 c. c. of the same culture.

On November 7, 1912, 0.01 c. c. of Culture 71 was inoculated, a control (941 A) receiving the same amount. The principal lived, while the control died in 18 hours. In this instance it is clear that the combined action of Cultures 52 and 48 furnished resistance against virulent Culture 71. Whether Culture 52 alone would have given the same result cannot now be stated; Culture 71 was lost before other tests could be made. That the virulence of Culture 71 was great was shown by the following tests:

Rabbit, 1 c. c. subcutaneous, died in 18 hours.
Fowl, 0.01 c. c. intramuscular, died in 15 hours.

Culture 70. — On the same dates mentioned above with reference to the tests of Culture 71, other rabbits were tested with Culture 70. The rabbit (628) which had received both Cultures 52 and 48 survived inoculation with Culture 70 while a control rabbit (942 A) died in 14 hours. Owing to the loss of the culture it was not tested against Culture 52 alone. That it possessed high virulence, however, is shown by the following virulence tests:

Rabbit, 0.01 c. c. subcutaneous, died in 14 hours.
Fowl 0.1 c. c. intramuscular, died in 15 hours.

Culture 72. — On June 30, 1911, a rabbit (943) was inoculated with 2 minims of Culture 52. On July 17, 1911, this animal received 0.000000000001 c. c. of Culture 48 and lived. On November 7, 1911, 0.01 c. c. of Culture 72 was inoculated subcutaneously. The animal lived, while the control rabbit (943 A) died in 60 hours. The combined action of Cultures 52 and 48 here also affords resistance, although the virulence of Culture 72 was not nearly as great as that of Cultures 70 and 71; this is indicated by a virulence test in which a rabbit, inoculated subcutaneously with 1 c. c., died in 40 hours.

Culture 73. — On January 16, 1912, an adult rabbit (759) received subcutaneously 1 c. c. of Culture 52 in broth. An infiltration was formed and the consequent abscess drained as usual. On August 2, 1912, this rabbit received 0.01 c. c. of Culture 48. Infiltration and abscess-formation followed. On November 7, 1912, this animal received 0.01 c. c. of Culture 73 and lived while the control rabbit (944 A) died in 20 hours. In this case the inoculation with Culture 52, followed by inoculation with Culture 48, appears to have given perfect immunity. The protective value of Culture 52 alone was not tested because of the loss of Culture 73.

Culture 83. — On March 16, 1914, an adult rabbit (1075) was inoculated with 0.1 c. c. of a 48-hour broth culture of Strain 52. Abscess and drainage followed. On April 15, this rabbit received subcutaneously 0.1 c. c. of Culture 83. Death followed in 27 hours, whereas the control (1095) died in less than 24 hours. Apparently no protection had resulted from the earlier inoculation with Culture 52.

A second test was made as follows: On June 11, 1914, an adult rabbit (1123) received subcutaneously 0.1 c. c. of Culture 52. Abscess and drainage followed. On July 8, this animal was inoculated with 0.01 c. c. of Culture 83, a control rabbit (1135) receiving the same amount. The principal lived while the control died in about 38 hours. From these data it is evident that Culture 52 possesses a certain amount of immunizing power against Culture 83, but that this power is somewhat uncertain.

These results may now be compared with a case in which a cumulative effect of inoculation with both Cultures 52 and 48 operates against infection with Strain 83.

On January 16, 1912, a rabbit (759) was inoculated with 1 c. c. of Culture 52. Abscess-formation and drainage followed. On August 2, 1912, the animal received 0.01 c. c. of Culture 48 and lived while the control (824 B) died in about 21 hours. On August 25, 1913, rabbit 759 was again inoculated, together with a control (1030 A), with 0.1 c. c. of Culture 83. The principal lived while the control died in 14 hours.

From these cases it is indicated that, in one instance, inoculation with Culture 52 alone conferred no appreciable resistance against virulent Culture 83, while in the other instance resistance was produced by Culture 52 alone. Furthermore that effective resistance was conferred by the inoculation of Culture 52 when followed after an appropriate interval with an inoculation with Culture 48.

Culture 83 possesses high virulence as indicated by the following tests:

Rabbit, 0.1 c. c. subcutaneous, died in 14 hours.
Pigeon, 0.1 c. c. intramuscular, died in 54 hours.
Pigeon, 0.1 c. c. intramuscular, died in 24 hours.

Culture 83 was obtained from Král's Laboratory where it was known as the "Kopenhagen Strain" of the fowl cholera bacterium. Cultural studies subsequently made demonstrated that it possessed the main features of the fowl cholera type, thus differing from the "Würzburg" and "Ficker" strains, which were probably not representatives of this group.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Culture 84. — On Jannary 31, 1912, rabbit 783 was inoculated with 0.1 c.c. of Culture 52; abscess and drainage followed. On May 1, 1912, this animal was inoculated with 0.1 c.c. of Culture 48. Inoculation with 0.01 c.c. of Culture 48 was repeated on August 7, 1912. In both cases, the principals lived while the control animals died in from 12 to 16 hours.

On August 25, 1912, rabbit 783 (1031) was inoculated, together with a control rabbit, with 0.1 c.c. of Culture 84. While 783 lived, the control died in about 84 hours.

The virulence of Culture 84 for pigeons and fowls was low as indicated both by the results presented above and by the following tests:

Fowl, 1 c.c. intramuscular, lives.
Pigeon, 0,1 c.c. intramuscular, lives.

This test was repeated as follows: On June 11, 1914, an adult rabbit (1124) was inoculated with 0.1 c.c. of Culture 52; abscess and drainage resulted. On July 2, this rabbit was inoculated with 0.1 c.c. of Culture 84. On July 3, a small swelling was apparent, but this was not followed by abscess-formation or drainage. The animal remained in good health. A control rabbit (1136) which received the same amount of Culture 84 showed a small infiltration on July 3, followed by abscess and drainage on July 6. Here it is again shown that Culture 84 possessed almost no virulence. The control rabbit mentioned above was inoculated with Culture 48 on July 13, to ascertain whether the inoculation with Culture 84 had produced any resistance. Death followed in about 16 hours; thus demonstrating the lack of both virulence and protective power in Culture 84.

Culture 84 was obtained from Král's Laboratory where it was known as the "Halle Strain" of fowl cholera bacterium. Since in later tests this culture was found to possess almost no virulence it will be found listed also in the first section of this paper, among the avirulent strains.

Culture 91. — On March 16, 1914, a three-quarters-grown rabbit (1076) was inoculated subcutaneously with 0.1 c.c. of Culture 52. A typical abscess, with drainage resulted. On April 15, 1914, this animal received 0.1 c.c. of Culture 91, subcutaneously; no ill effects were experienced. The control pigeon (1095) died in less than 24 hours. In this instance it is apparent that the inoculation with Culture 52 alone was able to bring about complete resistance against Culture 91, thus suggesting that Culture 91 differs either in degreé of virulence or in some other biological features from Cultures 62 and 83 against which Culture 52 alone was found to produce immunity only irregularly. That as in the former cases, the inoculation of both Culture 52 and (later) Cultures 48 and 83 results in the production of resistance of a high order is shown by the following case:

On January 16, 1912, an adult rabbit (769) was inoculated with 1 c.c. of Culture 52 in broth. On August 2, 1912, the animal received 0.01 c.c. of Culture 48 and lived, while the control (824 B) died in about 21 hours. On August 25, 1913, the animal received 0,1 c.c. of Culture 83 and lived while the control (1030 A) died in 14 hours. On December 18, 1913, 0,1 c.c. of Culture 48 was injected and the animal lived, while the control died in 12 hours. On February 20, 1914, 1 c.c. of Culture 91 was injected. The rabbit lived while the controls (rabbit 1068; pigeon 1067) died in 12 hours.

From these tests it is apparent that inoculation with Cultures 52, 48 and 83 in series, gave perfect immunity against virulent Culture 91, although the degree was possibly no greater than that which would have been obtained from inoculation of Culture 52 alone, or from the combined action of Cultures 48 and 52.

Summarized statement regardîng the protection afforded by Culture 52 against other virulent strains than Culture 48. — In the present section data are presented on attempts to produce resistance against 12 virulent strains of the fowl cholera organism, exclusive of Culture 48, the most virulent strain in the entire series. Against this strain successfully immunization has already been reported [1] [2].

Against five of the twelve virulent strains mentioned, immunization was attempted by the employment of Culture 52 alone. In three of the five cases, inoculation with Culture 52 conferred perfect resistance against the virulent strains (Cultures 68, 84 and 91). In the other two cases

1) Rhode Island Agric. Experim. Stat. Bull. 155. 1913.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 69. p. 271.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

(Cultures 62 and 83), inoculation with Culture 52 alone did not produce resistance in all tests; the results were uncertain.

It appears, however, that in all cases in which the employment of Culture 52 alone failed to produce immunity or gave questionable results, viz., against Cultures 62 and 83, a perfect resistance was produced by the employment of Cultures 52 and 48, inoculated successively in the sequence mentioned.

Furthermore, in all other cases in which it was not actually demonstrated that Culture 52 alone was protective against the virulent cultures (viz., Cultures 60, 61, 64, 70, 71, 72 and 73), it was shown conclusively that the combined action of the two cultures (52 and 48) produced perfect immunity. These data may be summarized in Table 1.

Table 1. Showing the protective value of Culture 52 alone, and of Culture 52 supplemented by Culture 48, against virulent strains of the fowl cholera bacterium.

Virulent cultures	Culture 52 alone protects	Culture 52 plus Culture 48 protects
60	Not tested	+
61	" "	+
62	(—) (+)[1])	+
64	Not tested	+
68	+	+
70	Not tested	+
71	" "	+
72	" "	+
73	" "	+
83	(—) (+)[2])	+
84	+	+
91	+	+

1) Result negative in two cases; positive in one case.
2) Result negative in one case; positive in one case.

III. Discussion.

From the data presented in the foregoing pages, it is apparent, first of all, that the results have an important bearing upon the formulation of practical measures for immunization against not only fowl cholera, but also against the haemorrhagic septicaemias in general. In an earlier paper it was reported that inoculation with Culture 52 protected rabbits against the single virulent Strain 48. It is now demonstrated further that Culture 52 protects against not Strain 48 alone, but also against at least three other virulent cholera cultures. But, what is perhaps more important, it is shown that in all cases in which Culture 52 alone fails to protect, the inoculation of Culture 52 followed by inoculation with Culture 48 yields perfect resistance. It suffices to say that in fowl cholera of rabbits, or rabbit septicaemia, these circumstances now afford a complete control of infection, so far as the employmeut of the thirteen virulent cultures now maintained in the laboratory collection is concerned; and, it may be added, these include the most virulent strains obtainable from the laboratories of Europe and America. By the use of Culture 52 alone, or through the employment of Culture 52 supplemented by Culture 48, any rabbit may now be permanently protected against every strain of the fowl cholera bacterium yet obtained. With this point demonstrated, attention will now be directed toward ascertaining to what extent similar methods of active immunization may prove effective in

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

controlling infection in birds. In this class of animals, the slightly greater natural resistance, as well as the marked difference in the type of tissue necrosis, may necessitate some modification in the original procedure.

What protection Culture 52 may afford against other types of haemorrhagic septicaemia cannot be stated at this time. Tests of some of the more common types, such as B. bovisepticus and B. suisepticus, are now under way.

But here these results have also perhaps a wider bearing. When the present investigation was begun, it was not strongly anticipated that the experiments in active-immunization would be productive of successful results. As pointed out in the earlier part of this paper, the idea was opposed to the chief trend of practically all previous experimental data with reference to fowl cholera; and, in fact, with reference to all diseases of the haemorrhagic septicaemia group. It was thought that a few cultures might reveal a slight immunizing power. But it resulted that only one culture possessed any immunizing power whatever, while the immunizing power of that one culture was, so to speak, perfect. The results were so definite and so constant that it may now be said without exaggeration that there is no known bacterial disease in which active immunization can be obtained by so simple and so sure a method as in the present instance. A single subcutaneous injection of from 0.00000001 c.c. to 2.0 c.c. of living Culture 52 attains this end, within a period of seven days from the time of inoculation.

The question is now raised. — What is the significance of this immunizing strain par excellence? Here, apparently is a unique culture of the fowl cholera bacterium, — one which cannot be differentiated morphologically, culturally or biochemically from sixteen other similar cultures which are also non-virulent but fail to immunize; or from twelve other virulent cultures which invariably give fatal results on inoculation.

May we regard this as a hint that in other pathogenic bacterial species, there exist among the many avirulent strains, one or two, perhaps, that may be characterized as immunizing cultures? In pneumonia, for instance, there exists a disease in which the initial ineffectiveness of the natural body defenses against infection is almost as apparent as in acute haemorrhagic septicaemia. One might inquire whether, among the multitude of avirulent cultures of the pneumococcus to be found widely scattered through the country, there exist strains, which by some form of inoculation and through some strictly local reaction, would call forth the immune response to more virulent cultural material. In this disease, and in some other communicable diseases of man and animals, might it not be worth while to make a systematic study of the reciprocal relations existing between various virulent and avirulent types?

Finally, to turn to the point considered at the opening of this paper: What is the bearing of these data on the conclusion reached by Pasteur regarding immunization by means of attenuated strains? Contrary to the results obtained by Cagny, Hess, Kitt, Voges[1]) and many others, it is shown by the results presented in this paper, and in earlier papers by the writer[2]), that not only is active-immunization by means of attenuated cultures possible, but that the resistance resulting therefrom in the case of Culture 52 at least, represents a degree of immunity seldom attained in active-immunization in any class of animals against any disease.

1) Op. cit.
2) Op. cit.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

One may reply that it is not assured that Culture 52 ever was a virulent culture, hence that it cannot be called an attenuated culture in the sense in which Pasteur used this term, since Pasteur's culture was, at the outset of his investigation, virulent. To this objection all that may be said is that we are probably justified in assuming that all strains of the fowl cholera bacterium now non-virulent were, at one time, virulent. That non-virulent strains may, under favorable natural conditions, attain virulence, must also be held as an open possibility, although there exists little positive evidence of this. From this point of view Culture 52 may be regarded as an attenuated culture in the same sense as Pasteur's strain. The difference lies in the fact that we are not acquainted with the early history of Strain 52. It has been maintained as an artificial culture for at least seven or eight years, and during this time it has not manifested virulence. The immunizing power possessed by this culture has been recognized for about four years, and during this period has changed in no appreciable degree. Many attempts have been made to develop a virulence by means of passages through very young rabbits (intraperitoneal inoculation) but without success; the culture remains always the same, — protective and non-virulent.

The point may be urged that, whereas the attenuation process in Pasteur's case took place suddenly (two or three months), in the case of Culture 52 the attenuation may have been more gradual and is therefore not of the same type. In answer to this it may be said that, even under natural conditions, a highly virulent culture of the fowl cholera bacterium may, and frequently does, lose its virulence with remarkable rapidity. In the present writer's experience a culture which within a few weeks time caused the death of 3000 out of a flock of 4500 fowls, became suddenly so weak that within a week after the epidemic it was non-pathogenic for rabbits, and in a few weeks more only slightly pathogenic for fowls. This culture, however[1]), notwithstanding its marked degree of attenuation, failed to endow the inoculated animals with any appreciable degree of resistance against virulent material.

This culture could be differentiated from Culture 52 in no way except by the nitrate and indol tests, or possibly by the amount of acid produced in dextrose broth. From this we may assume that virulence is a property that may be lost by microorganisms in a remarkably short time, and this may have happened in the case of Culture 52 as well as in the case of Pasteur's immunizing strain of which we now have no further record. In conclusion, it suffices to say that our acquaintance with the biological features of Culture 52 requires that, whatever have been the results of those investigators who have without success repeated Pasteur's experiment, we accept the fact of the existence of attenuated, immunizing strains of the fowl cholera bacterium. It was undoubtedly with such a culture that Pasteur worked, and the circumstance is repeated in the present writer's experience in the discovery of immunizing Strain 52.

These considerations lead to a broader conception regarding the multiplicity of characteristics which are linked together in a single "good" bacterial species. A brief study of merely two or three dozen strains of the fowl cholera bacterium, laying aside the commonly-regarded cultural features, gives us at least the following types:

1) Culture 16; see text.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1. Virulent cultures which never appear to lose their virulent character. Of this class, Culture 48 is an example. This strain has now been maintained on laboratory media for more than three and a half years, and its virulence is not in the least impaired as far as can be ascertained from animal tests. From one to four organisms, inoculated subcutaneously, are fatal for rabbits in from twelve to eighteen hours.

2. Virulent cultures which lose their virulence (either slowly or rapidly) and regain it under suitable conditions. Of such cultures many have been reported.

3. Virulent cultures which lose their virulence (either slowly or rapidly) and do not regain it under any experimental treatment yet devised. Many such cultures have been considered in this paper. They may be divided into two groups:

a. The attenuated cultures which possess no immunizing value. In the present study these represent all but one of the avirulent strains.

b. The attenuated cultures which possess an immunizing value. In the present study this group is represented by Culture 52 alone.

It is clear, therefore, that there are possessed by micro-organisms, in addition to the commonly-regarded cultural and biochemical features that are fairly constant for a given strain, other characters with which we are, for the most part, unacquainted, merely because we have not studied them. Among such characters, which also appear to be constant, might be mentioned:

1. The ability to maintain virulence under diversified environmental conditions.

2. The ability to give up virulence by slow degrees only (chiefly during adaptation to artificial media).

3. The ability to surrender virulence with great rapidity (chiefly from natural causes, as during the progress of an epidemic toward its culmination).

4. The ability to regain lost virulence or to attain a heightened grade of virulence.

5. The inability to regain virulence when once lost, or to attain greater virulence.

6. The ability to grow and to produce local reaction at the point of inoculation.

7. The inability to grow at the point of inoculation and to produce a reaction (explained by various authors as due to the absence of „antiphagines"[1]), "virulins"[2]), „aggressins"[3])).

8. The ability to produce resistance upon inoculation into susceptible animals.

In all these ways, and probably in many others still unrecognized, different strains of the same bacterial species may differ from one another. There is much more to be learned about the inherent qualities of pathogenic micro-organisms than appears upon commonly employed identification charts. We have become accustomed to take physical measurements, a few cultural tests, a few biochemical reactions, and, behold,

1) Tschistovitch, Ann. Instit. Pasteur. Vol. 23. 1909. p. 911—920.
2) Rosenow, Journ. Infect. Diseases. Vol. 4. 1907. p. 285.
3) Weil, Arch. f. Hyg. Bd. 52. 1905. p. 413—432.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

we know our culture! In the case of the pathogenic species considered in this paper, such a superficial examination would relegate to one group three types of organisms which further study proves to possess physiological differences of supreme importance: One is fatal in doses of one to four organisms; another produces local reaction only; while the third produces an identical local reaction followed by complete immunity to virulent material; and these three strains are not to be differentiated by any morphological, cultural or biochemical test.

Such a situation must convince us that less regard for detailed cultural features and a more careful scrutiny of the nature of the physiological reactions resulting from the inoculation of strains that may, culturally and biochemically, appear to be identical, opens a possibility for more efficient methods of active-immunization than are now at hand in the case of many communicable diseases of man and animals.

Summary.

The present paper presents the results of a study conducted to ascertain 1) the protective power of certain avirulent cultures of the fowl cholera organism against a highly virulent culture (Culture 48); 2) the extent and degree of protective power exercised by a certain immunizing culture (Culture 52) against twelve, heretofore untested, virulent strains; 3) the protective power of combinations of cultures. These results, briefly stated, are as follows:

1. Among seventeen strains of the actual fowl cholera bacterium which have now been tested for their resistance-producing power toward a highly virulent culture, only one (Culture 52) was found which produced any resistance whatever; and this culture, upon subcutaneous inoculation, invariably gave perfect immunity against the most virulent culture in the laboratory collection (Culture 48).

2. This immunizing culture has now been tested (alone) against five other virulent strains, toward three of which it is also protective. In the other two cases, it is irregularly protective.

3. In the two instances (see above) in which Culture 52 alone failed to protect, or protected irregularly, complete protection was afforded by inoculation with Culture 52 followed, after one week or more, by inoculation with Culture 48.

4. In all cases in which Culture 52 alone was not tested against virulent cultures (seven), the inoculation with both Cultures 52 and 48, in the sequence and under the conditions stated, yielded complete immunity.

5. The results obtained in the investigation, thus far reported, are such as to afford, for the first time, complete control over infection in rabbits with probably any virulent strain of the fowl cholera bacterium.

6. The discovery of the efficient immunizing power of Culture 52, confirms in a measure, Pasteur's observations on immunization against fowl cholera by means of attenuated cultures of the fowl cholera bacterium.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

7. The subtle differences that may exist among cultures of exactly the same morphological, cultural and biochemical features are pointed out, and the results of this investigation suggest the possible favorable results to be obtained from a detailed study of the immunizing power of avirulent strains of other pathogenic bacterial species.

Nachdruck verboten.

Spezifische Abbaufermente gegen Zellbestandteile von Bakterien.

Von Prof. Dr. **F. Hutyra** und Dr. **R. Manninger** in Budapest.

Die Möglichkeit, daß in den tierischen Organismus eingedrungene Mikroorganismen das Auftreten von spezifischen Abwehrfermenten anregen, wurde von Abderhalden, schon auf Grund theoretischer Erwägungen, für wahrscheinlich erachtet und nachher durch seine und Andrejewskys Versuche für den Tuberkelbacillus sowie für den Rotzbacillus auch experimentell dargetan. Nach ihrer Ansicht können die Fermente nicht nur auf die betreffenden Zellen in toto, sondern auch auf gewisse Bestandteile von ihnen eingestellt sein.

Spätere, ähnliche Versuche anderer Forscher haben zum Teil widersprechende Resultate ergeben. So beobachtete beispielsweise Melikjanz mit Serum tuberkulöser Kaninchen den Abbau von Tuberkelbacillen, während Fekete und Gál bei künstlich behandelten Kaninchen auf Coli- und Typhusbacillen, ferner auf Staphylokokken passende, allerdings nicht immer streng spezifische Fermente nachweisen konnten, und auch Völkel zu dem Resultate gelangte, daß das Dialysierverfahren sich zur Differenzierung von Bakterien und zur Diagnose bakterieller Erkrankungen eigne. Im Gegensatze zu diesen positiven Versuchsergebnissen, ist es Schenk nicht gelungen, bei mit Bakterien vorbehandelten Kaninchen Fermentreaktionen im Sinne Abderhaldens zu erzielen, und auch Kirschbaum und Köhler berichten über nicht zufriedenstellende Versuchsresultate.

Bei unseren Versuchen haben wir folgende Bakterien als Antigene verwendet: die gestrichelte Varietät des Anthraxbacillus, die muköse Varietät desselben Bacillus, Kapselsubstanz für sich und den Bac. anthracoides. Die Fragestellung war, ob einerseits in der Abbaufähigkeit des Serums von Tieren, die mit je einem der erstgenannten 3 Antigene behandelt wurden, spezifische Unterschiede gegenüber der Leibessubstanz und der Kapselsubstanz des Anthraxbacillus zutage treten, und ob andererseits diese Unterschiede sich bei Behandlung der Versuchstiere mit Anthraxbacillen, bzw. mit Anthracoides-Bacillen, mit Rücksicht auf deren wahrscheinliche phylogenetische Verwandtschaft, weniger scharf geltend machen.

Zu diesem Zwecke wurden Kaninchen und Hunden abgetötete und lebende Bacillen subkutan eingespritzt, und zwar wurde, abgesehen von jenen Versuchen, wo die Tiere vor dem Auftreten von Abwehrfermenten eingegangen sind, je 1 Kaninchen mit abgetöteten Milzbrandbacillen beider Varietäten, bezw. mit Anthracoides-Bacillen behandelt, 2 Kaninchen und 1 Hund mit kapsellosen, je 1 Kaninchen und 1 Hund mit

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mukösen Milzbrandbacillen, bzw. mit Anthracoides-Bacillen infiziert. Einem Kaninchen und einem Hunde wurde Milzbrandkapselsubstanz einverleibt.

Das Blutserum aller Versuchstiere wurde vor der Behandlung auf das Vorhandensein von Fermenten untersucht; in keinem Falle baute es Milzbrandbacillen, Anthracoides-Bacillen oder Kapselsubstanz des Milzbrandbacillus ab. Nach der Behandlung mit den genannten Bakterien und mit Kapselsubstanz wurde den Tieren zeitweise, teils aus der Ohrvene, teils aus der Drosselvene, Blut entnommen. Selbstverständlich wurden die Versuche ausschließlich mit hämoglobinfreien Seris angestellt. Die Technik war hierbei die folgende:

Zur Herstellung der Antigene wurden Agarkulturen der gestrichelten und der schleimigen Varietät des Milzbrandbacillus und solche des Bacillus anthracoides verwendet, und zwar wurden 2—3 Tage alte Kulturen mit etwa 10 ccm destillierten Wassers abgeschwemmt, hierauf die Bakterienemulsionen 10 Minuten lang energisch gekocht und schließlich zentrifugiert; die abgesetzten Bakterienmassen wurden nun mit frischem Wasser wieder gekocht usf. Diese Manipulation wurde so lange wiederholt, bis das Kochwasser selbst die verschärfte Ninhydrinreaktion (5 ccm filtriertes Kochwasser + 1 ccm 1-proz. Ninhydrinlösung) nicht mehr gab. Dies war meistens nach dem 5.—6. Aufkochen der Fall. Die nunmehr peptonfreien Bakterien wurden mit 9 Teilen sterilen, destillierten Wassers vermengt und unter Toluol aufbewahrt.

Das Kapselsubstanzantigen wurde auf folgende Weise bereitet: 2—3 Tage alte Agarkulturen der schleimigen Varietät des Milzbrandbacillus wurden mit einer 3-proz. Lösung von Aetzkali abgeschwemmt. Nachdem die Kalilauge das Anthracomucin gelöst hatte, wurde die Flüssigkeit durch ein dichtes Asbestfilter filtriert. Aus dem schwach gelblichen, klaren Filtrate schied sich die Kapselsubstanz nach Zusatz von Essigsäurelösung in Form feiner Flocken aus. Die Kapselsubstanz wurde nun in ähnlicher Weise behandelt wie die Bakterienemulsionen.

Die Dialysierhülsen (No. 579 A., bezogen von Schleicher & Schüll, Düren) sind auf Undurchlässigkeit für Eiweiß und Durchlässigkeit für Peptone sorgfältig geprüft worden, auch wurden die Regeln in bezug auf chemische und bakteriologische Reinheit der Utensilien und Sorgfalt in der Ausführung der Versuche strengstens befolgt.

In je eine Dialysierhülse kam je 1 ccm Serum allein oder mit je einem Antigen. Mit jedem Serum wurden somit 5 Versuche angesetzt, eine Kontrolle und je eine Probe mit jedem der verwendeten Antigene. Die Menge des Antigens betrug in jedem Falle 0,5 ccm der 10-proz. Aufschwemmung. Die gefüllten Dialysierhülsen kamen in 20 ccm steriles, destilliertes Wasser enthaltende Erlenmeyersche Kölbchen. Inhalt der Schläuche und Außenflüssigkeit wurden mit Toluol bedeckt; es wurde stets 16 Stunden lang dialysiert. Zum Nachweis von Abbauprodukten wurde die Ninhydrinreaktion (10 ccm Dialysat + 0,2 ccm 1-proz. Ninhydrinlösung) angestellt.

Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen (I—XII) zusammengefaßt.

A. Versuche mit abgetöteten Bakterien und Kapselsubstanz.

In dieser Versuchsreihe wurden die Tiere mit abgetöteten Milzbrandbacillen beider Varietäten, bzw. mit abgetöteten Anthracoides-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bacillen, ferner mit Kapselsubstanz des Milzbrandbacillus behandelt. Da die Bacillen im Tierkörper sich nicht zu vermehren vermochten, konnte eine eventuelle Produktion von Abwehrfermenten lediglich durch die einverleibten fremden Eiweißsubstanzen angeregt werden.

Die Kapselsubstanz ist sowohl nach ihrer metachromatischen Färbbarkeit, als auch nach den Ergebnissen der chemischen Untersuchungen von dem Bacillenkörper offenbar verschieden; man durfte daher, eine strenge Spezifizität der Abwehrfermente vorausgesetzt, von vornherein erwarten, daß die Nichtidentität sich auch in der Verschiedenheit der Fermente kundgeben wird.

Die Resultate der Versuche sind in Tab. I—V zusammengestellt:

Tabelle I[1]).

Gestrichelte Varietät des Milzbrandbacillus.

Kaninchen No 1, 2000 g schwer, erhielt am 1. XII. die Hälfte einer 6-stündigen, durch 1-stündiges Erhitzen auf 60° abgetöteten Agarkultur unter die Haut:

Antigen	Ninhydrinreaktion am	
	3.	6.
	Tage nach der Injektion	
B. anthr. var. striata	—	+
B. anthr. var. mucosa	—	+
B. anthracoides	—	(+)
Kapselsubstanz	—	—
— (Kontrolle)	—	—

Tabelle II.

Schleimige Varietät des Milzbrandbacillus.

Kaninchen No. 3, 2500 g schwer, erhielt am 6. XII. eine 8-stündige, durch 1-stündiges Erhitzen auf 60° abgetötete Agarkultur unter die Haut:

Antigen	Ninhydrinreaktion am	
	3.	6.
	Tage nach der Injektion	
B. anthr. var. striata	+	+
B. anthr. var. mucosa	+	+
B. anthracoides	(+)	(+)
Kapselsubstanz	+	+
— (Kontrolle)	—	—

Tabelle III.

Bacillus anthracoides.

Kaninchen No. 2, 1900 g schwer, erhielt am 1. XII. die Hälfte einer 6-stündigen, durch 1-stündiges Erhitzen auf 60° abgetöteten Agarkultur unter die Haut:

Antigen	Ninhydrinreaktion am	
	3.	6.
	Tage nach der Injektion	
B. anthr. var. striata	—	(+)
B. anthr. var. mucosa	—	(+)
B. anthracoides	—	+
Kapselsubstanz	—	—
— (Kontrolle)	—	—

1) In den Tabellen bedeutet + deutliche Blaufärbung, (+) geringe Blaufärbung — keine Blaufärbung bei der Ninhydrinreaktion.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV.

Kapselsubstanz des Milzbrandbacillus.

Kaninchen No. 4, 1800 g schwer, erhielt am 7. XII. 1 ccm einer 10-proz. Aufschwemmung von Kapselsubstanz des Milzbrandbacillus unter die Haut:

Antigen	Ninhydrinreaktion am	
	3.	6.
	Tage nach der Injektion	
B. anthr. var. striata	—	—
B. anthr. var. mucosa	+	+
B. anthracoides	—	—
Kapselsubstanz	+	+
— (Kontrolle)	—	—

Tabelle V.

Kapselsubstanz des Milzbrandbacillus.

Hund No. 3, 9,5 kg schwer, erhielt am 3. V. 10 ccm einer 10-proz. Aufschwemmung von Kapselsubstanz unter die Haut:

Antigen	Ninhydrinreaktion am	
	8.	9.
	Tage nach der Injektion	
B. anthr. var. striata	—	—
B. anthr. var. mucosa	[1])	+
B. anthracoides	—	—
Kapselsubstanz	+	+
— (Kontrolle)	—	—

Die Ergebnisse dieser Versuche lehren, daß die gestrichelte Varietät des Milzbrandbacillus die Produktion von Abwehrfermenten gegen beide Varietäten des Milzbrandbacillus auslöste, während das Serum des Kaninchens, das mit abgetöteten, mukösen Milzbrandbacillen behandelt worden war, außer Milzbrandbacillen auch reine Kapselsubstanz abbaute. In beiden Versuchen baute das Serum auch Anthracoides-Bacillen ab, jedoch in bedeutend geringerem Grade, denn die Ninhydrinreaktion fiel mit diesem Antigen nur sehr schwach aus. Desgleichen baute das Serum des mit Anthracoides-Bacillen behandelten Kaninchens Anthracoides-Bacillen energisch, dagegen beide Varietäten des Milzbrandbacillus nur ganz schwach ab, während die Kapselsubstanz intakt blieb. Das Serum vom Kaninchen No. 4, das mit Kapselsubstanz präpariert war, baute Kapselsubstanz und Bacillen der mukösen Varietät ab, dagegen war eine Wirksamkeit auf andere Antigene nicht nachweisbar. Dasselbe Resultat lieferten die Versuche, die mit dem Serum eines Hundes (Tab. V) angestellt wurden, der Kapselsubstanz unter die Haut bekommen hatte.

Der negative Ausfall der Reaktion mit Kapselsubstanz im Versuche I findet darin eine Erklärung, daß aus den toten Anthraxbacillen der gestrichelten Varietät sich im Tierkörper keine bekapselten Bacillen entwickeln konnten.

Der Nachweis von Abwehrfermenten gelang bei den Kaninchen am 3.—6., beim Hunde am 8. Tage nach der Behandlung.

1) Probe verdorben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

B. Versuche mit lebenden Bacillen.

In dieser Versuchsreihe wurden die Tiere mit denselben Bakterienarten infiziert, wie in der vorangehenden; da jedoch lebende, entwickelungsfähige Bacillen in den Tierkörper gelangten, mußte in der Wirkung der gestrichelten Varietät des Milzbrandbacillus ein Unterschied gegenüber dem Verhalten der abgetöteten Bacillen derselben Varietät zutage treten. Bekanntlich erzeugt die auf Agar unbekapselt wachsende, gestrichelte Varietät im empfänglichen Tierkörper Kapseln, denen, wie dies besonders Preisz dargetan hat, die Fähigkeit zukommt, die Wirkung anthracozider Stoffe aufzuheben. Man durfte deshalb mit der Möglichkeit rechnen, daß diese Varietät im Tierkörper das Auftreten von Abwehrfermenten gegen Kapselsubstanz zur Folge haben wird.

Tabelle VI.

Gestrichelte Varietät des Milzbrandbacillus.

Kaninchen No. 10, 1750 g schwer, erhielt am 17. V. $^1/_{20}$ Oese einer 24-stündigen Agarkultur unter die Haut:

Antigen	Ninhydrinreaktion am	
	3.	4.
	Tage nach der Injektion	
B. anthr. var. striata	+	+
B. anthr. var. mucosa	+	+
B. anthracoides	.	(+)
Kapselsubstanz	+	+
— (Kontrolle)	—	—

Tabelle VII.

Gestrichelte Varietät des Milzbrandbacillus.

Kaninchen No. 11, 1900 g schwer, erhielt am 17. V. $^1/_{50}$ Oese einer 24-stündigen Agarkultur unter die Haut:

Antigen	Ninhydrinreaktion am		
	3.	4.	6.
	Tage nach der Injektion		
B. anthr. var. striata	—	+	+
B. anthr. var. mucosa	—	+	+
B. anthracoides	—	—	—
Kapselsubstanz	—	—	+
— (Kontrolle)	—	—	—

Tabelle VIII.

Schleimige Varietät des Milzbrandbacillus.

Kaninchen No. 8, 1700 g schwer, erhielt am 28. II. eine Oese einer 24-stündigen Agarkultur unter die Haut:

Antigen	Ninhydrinreaktion am	
	3.	5.
	Tage nach der Injektion	
B. anthr. var. striata	+	+
B. anthr. var. mucosa	+	+
B. anthracoides	—	(+)
Kapselsubstanz	+	+
— (Kontrolle)	—	—

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IX.

Bacillus anthracoides.

Kaninchen No. 7, 1800 g schwer, erhielt am 23. II. $^1/_{10}$ Oese einer 24-stündigen Agarkultur unter die Haut:

Antigen	Ninhydrinreaktion am	
	3.	6.
	Tage nach der Injektion	
B. anthr. var. striata	(+)	(+)
B. anthr. var. mucosa	(+)	(+)
B. anthracoides	+	+
Kapselsubstanz	—	—
— (Kontrolle)	—	—

Tabelle X.

Gestrichelte Varietät des Milzbrandbacillus.

Hund No. 4, 12 kg schwer, erhielt am 23. V. eine Oese einer 24-stündigen, sporenhaltigen Agarkultur unter die Haut:

Antigen	Ninhydrinreaktion am		
	6.	8.	10.
	Tage nach der Injektion		
B. anthr. var. striata	(+)	+	+
B. anthr. var. mucosa	—	+	+
B. anthracoides	—	—	—
Kapselsubstanz	—	—	+
— (Kontrolle)	—	—	—

Tabelle XI.

Schleimige Varietät des Milzbrandbacillus.

Hund No. 1, 7 kg schwer, erhielt am 23./III. 2 Oesen einer 24-stündigen Agarkultur unter die Haut:

Antigen	Ninhydrinreaktion am	
	3.	4.
	Tage nach der Injektion	
B. anthr. var. striata	—	+
B. anthr. var. mucosa	—	+
B. anthracoides	—	—
Kapselsubstanz	—	+
— (Kontrolle)	—	—

Tabelle XII.

Bacillus anthracoides.

Hund No. 2, 5 kg schwer, erhielt am 23. IV. die Hälfte einer 24-stündigen Agarkultur unter die Haut:

Antigen	Ninhydrinreaktion am	
	6.	7.
	Tage nach der Injektion	
B. anthr. var. striata	—	—
B. anthr. var. mucosa	—	—
B. anthracoides	—	—
— (Kontrolle)	—	—

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe finden sich in den Tabellen VI—XII zusammengestellt.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

An Kaninchen wurden 2 Versuche (Tab. VI u. VII) mit der gestrichelten Varietät des Milzbrandbacillus angestellt. Bei dem einen Kaninchen (No. 10) baute das Serum schon am 3. Tage nach der Infektion beide Varietäten des Milzbrandbacillus und Kapselsubstanz, am 4. Tage außer diesen teilweise auch den Bacillus anthracoides ab. Das Serum des anderen Kaninchens (No. 11) baute am 4. Tage nach der Infektion bloß Milzbrandbacillen, 2 Tage darauf auch Kapselsubstanz ab, während von diesem Serum Bacillus anthracoides unbehelligt blieb.

Die Versuche mit lebenden, mukösen Milzbrandbacillen und mit Anthracoides-Bacillen (Tab. VIII u. IX) ergaben bei Kaninchen genau dieselben Resultate, wie die mit abgetöteten. Das Erscheinen der Fermente war schon am 3. Tage nach der Infektion nachweisbar.

Die Versuche, die mit lebenden Bacillen an Hunden angestellt wurden, führten zu folgenden Ergebnissen: Die gestrichelte und die muköse Varietät des Milzbrandbacillus (Tab. X u. XI) löste die Produktion von Abbaufermenten gegen beide Varietäten und gegen Kapselsubstanz aus. Das Serum des Hundes, der mit Anthracoides-Bacillen behandelt wurde (Tab. XII), baute nur Anthracoides-Bacillen ab. Das Vorhandensein von Fermenten im Blute konnte bei den Hunden zuerst am 3.—6. Tage nach der Injektion nachgewiesen werden. Auffallend ist, daß das Serum der Hunde, die mit Milzbrandbacillen infiziert wurden, Anthracoides-Bacillen, das Serum des Hundes, der mit Anthracoides-Bacillen behandelt wurde, Milzbrandbacillen überhaupt nicht abbaute, wo doch dies bei den Kaninchen, allerdings nur in Spuren, fast stets der Fall war.

Die Versuche gestatten die Annahme, daß die schleimige Varietät des Milzbrandbacillus, entsprechend ihren zwei Komponenten, dem Bacillenleib und der Kapselsubstanz, die Produktion zweierlei Arten von Abbaufermenten bewirkt, denn die Bacillen der schleimigen Varietät wurden abgebaut sowohl vom Serum der Tiere, die mit abgetöteten, kapsellosen Milzbrandbacillen behandelt wurden, als auch vom Serum der Tiere, die nur Kapselsubstanz erhalten haben. Das Serum der Tiere, denen lebende, gestrichelte, kapsellose Milzbrandbacillen einverleibt wurden, verhielt sich diesbezüglich genau so, wie dasjenige mit mukösen Bacillen infizierter Tiere. Daß in der Kultur kapsellos wachsende Bacillen die Erzeugung Kapselsubstanz spaltender Fermente bewirken, läßt sich, wie bereits erwähnt, daraus erklären, daß Bacillen der gestrichelten Varietät, die in Agarkulturen keine Kapseln besitzen, im Tierkörper bekapselte Bacillen erzeugen.

Die Erscheinung, daß Milzbrandbacillen abbauende Sera, wenigstens zum Teil, auch Anthracoides-Bacillen schwach abbauen, dürfte als ein neuerlicher Beweis für die phylogenetische Verwandtschaft dieser 2 Bacillenarten betrachtet werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Literatur.

Abderhalden, Abwehrfermente des tierischen Organismus. 3. Aufl. Berlin 1913.
Abderhalden u. Andrejewsky, München. med. Wochenschr. 1913. p. 1641.
Melikjanz, Deutsch. med. Wochenschr. 1914. p. 1369.
Fekete u. Gál, Monatsschr. f. Geburtsh. u. Gynäkol. B. 34. 1914. p. 21.
Völkel, München. med. Wochenschr. 1914. p. 349.
Schenk, Wien. klin. Wochenschr. 1914. No. 25.
Kirschbaum u. Köhler, Wien. klin. Wochenschr. 1914. No. 24.

Nachdruck verboten.

Cellitsäckchen als Ersatz für Kollodiumsäckchen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität Parma.]

Von Prof. Dr. **E. Bertarelli,** Leiter des Instituts.

Die Herstellung der Kollodiumsäckchen, die hier und da in der Bakteriologie noch zur Verwendung kommen, stößt in der Praxis immer noch auf nicht geringen Schwierigkeiten.

Zur Erleichterung ihrer Zubereitung sind mehrfache Abänderungen in dem Herstellungsverfahren in Vorschlag gebracht worden, die Besson in seinem bekannten Handbuch der Mikrobiologie ziemlich ausführlich beschrieben und vereinigt hat. Einige der besagten Schwierigkeiten können nun freilich durch kleine Kunstgriffe überwunden werden (so z. B. mit der von mir angeratenen Abänderung, nach der der Hals des Säckchens auf eine über der Flamme gezogene Glasröhre zu bringen ist, was die Einführung des Nährbodens, die Beschickung desselben sowie den Verschluß des Röhrchens ohne Schwierigkeit gestattet), andere aber bestehen auch heute noch fort. So ist die Widerstandsfähigkeit der Säckchen immer noch ziemlich mäßig, auch ziehen sie sich während der Zubereitung leicht zusammen. Dann ist es immer noch, trotz der von Gorsline angeratenen gelöcherten Röhrchen, durchaus keine leichte Sache, das Kollodiumsäckchen von dem Glase loszubringen, das zu seiner Gestaltung gedient hat.

Zu einem ganz einfachen Verfahren sinkt jedoch die Herstellung der Säckchen zusammen, wenn wir uns dazu eines anderen, leicht verwendbaren Materials bedienen, mit dem sich Säckchen erzeugen lassen, die, was Durchlässigkeit anbetrifft, alle Eigenschaften des Kollodiums besitzen.

Die solchen Anforderungen genügenden Stoffe sind verschiedene Celluloseverbindungen, wie Celluloseacetat, Cellulosexanthat usw. Das Cellulosexanthat wäre hierzu eigentlich am besten geeignet; da es aber im Handel schwer erhältlich ist, habe ich zu dem Celluloseacetat gegriffen, das unter dem Namen Cellit von einigen Fabriken (z. B. Bayer in Elberfeld) hergestellt und in den Handel gebracht wird. Das Cellit ist in verschiedener Höhe löslich, bis zu 18—20 Proz. in Aceton, Essigsäure oder in Mischungen von Aceton und Alkohol.

Von geeignetsten Lösungen und Mischungen ist nach Ansicht des herstellenden Hauses eine Mischung von 20 Gewichtsteilen Alkohol und 80 Gewichtsteilen Essigsäure oder aber eine Mischung von 20 Teilen Aceton, 13 Teilen rektifizierten Alkohols und 49 Teilen Essigsäure am meisten empfehlenswert.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ich für meinen Teil habe nicht gefunden, daß die eine oder andere Lösung sich zu dem gedachten Zwecke besser eignet; höchstens ließe sich sagen, daß bei Verwendung der einen oder anderen Mischung ein höherer Wert für das lösbare Cellit erhalten werden kann, was aber bei der für uns in Frage kommenden Zubereitung keine Rolle spielt. Hat man sich also für ein bestimmtes Lösungsmittel entschieden, so ist es wohl am ratsamsten, eine 12—15-proz. Cellitlösung herzustellen.

Daraufhin nimmt man ein Reagensglas, das die Maße aufweist, die man dem zur Verwendung gelangenden Säckchen geben will, taucht es je nach Wunsch bis zu einer gewissen Tiefe in die Cellitlösung ein, zieht es heraus, läßt die klebrige Flüssigkeit etwas abtropfen und stürzt das Reagensglas nötigenfalls einen Augenblick, damit die Lösung sich an den Wänden des Röhrchens gut verteilt. Man gebe wohl darauf acht, daß das Röhrchen überall eine absolut gleiche Weite besitzt, da etwaige Buckel die Abnahme des Säckchens sehr erschweren würden.

Nun wird die Celluloselösung zur Gerinnung gebracht, indem man das von Cellit überzogene Röhrchen in Wasser oder in eine schwefelsaure Ammoniumlösung (Wasser eignet sich übrigens hierzu vorzüglich) einführt. Die Cellitlösung gerinnt innerhalb weniger Minuten, erstarrt und wird opalisierend. Geht man vorsichtig zu Werke, so läßt sich dann das kleine Säckchen ohne Schwierigkeit abziehen, worauf es zur Entfernung etwaiger Aceton- oder Essigsäurespuren sorgfältig in Wasser gewaschen und, wie ich dies bereits für die Kollodiumsäckchen angegeben habe, auf ein scharf abschneidendes Glasröhrchen montiert und schließlich im Autoklaven sterilisiert wird. Sodann wird das Röhrchen mit Fleischbrühe oder einer anderen Flüssigkeit angefüllt und nach Verschließung des scharf abschneidenden Endes des Röhrchens, das mit dem Ende des Säckchens zusammenfällt, in die Bauchhöhle gebracht.

Diese Cellitsäckchen lassen sich sehr leicht herstellen und gelingen meist schon bei dem ersten Versuche sehr gut; außerdem sind sie sehr widerstandsfähig und ziehen sich, im Bauchfelle gehalten, nicht zusammen (nur wenn sie trocken gehalten, werden sie hart und pergamentartig). Sie schalten also die bei der Herstellung der in die Bauchhöhle zu bringenden Säckchen bisher sich einstellenden technischen Schwierigkeiten aus und ersetzen mit großem Vorteil die Kollodiumsäckchen.

Inhalt.

Amato, Alexander, Ueber die Speicheldrüsen bei Lyssa, p. 403.
Bertani, Michele, Ueber die Tuberkulose des Hundes, p. 401.
Bertarelli, E., Cellitsäckchen als Ersatz für Kollodiumsäckchen, p. 463.
Fermi, Claudio, Pouvoir immunisant de la substance nerveuse rabique d'animaux (poulets, canards, oies) dont la substance nerveuse normale est privée du pouvoir immunisant. III., p. 434.
— —, Pouvoir immunisant et lyssicide des nucléo-protéides, des substances nerveuses et normales, des substances blanches et grises séparées, de la substance testiculaire, du jaune d'œuf et des testicules du mouton. IV., p. 436.
Hadley, Philip B., The reciprocal relations of virulent and attenuated cultures in active immunization, p. 442.
Hutyra, F. u. Manninger, R., Spezifische Abbaufermente gegen Zellbestandteile von Bakterien, p. 456.
Küthe, H., Ueber Bakterien im Kälberdarm, p. 409.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 76. Heft 7.
Ausgegeben am 25. August 1915.

Nachdruck verboten.

Ein choleraähnlicher Vibrio.

[Aus dem k. u. k. Epidemiespital No. 2 in Łobzów (Kommandant: Reg.-Arzt Dr. S. Scharf) und dem Serotherapeutischen Institut in Krakau (Direktor: Oberstabsarzt I. Kl. Prof. Odo Bujwid).]

Von

Dr. **M. Gieszczykiewicz,** und Dr. **St. Sierakowski,**
Assistenzarzt i. d. Res., Assistent des Serotherapeut. Inst. in Krakau.

Die Choleraepidemie 1914 hat uns Veranlassung gegeben, die Literatur der choleraähnlichen Vibrionen um einen Fall zu bereichern. Der von uns aus dem Stuhle eines an Diarrhöe leidenden Patienten isolierte Vibrio „Łobzów" ist morphologisch von dem Choleravibrio nicht zu unterscheiden; er wurde einer eingehenden Untersuchung unterzogen, hauptsächlich wegen seiner hohen Virulenz den Meerschweinchen und Vögeln gegenüber.

Der Patient, aus dessen Stuhl unser Vibrio isoliert wurde, war 2mal gegen Cholera im Oktober 1914 geimpft. Erkrankt ist er am 28. Dez. 1914. Er klagte über Durchfall. Blut sollte er im Stuhl nicht beobachtet haben; die klinische Untersuchung hat außer einem leichten Bronchialkatarrh, der in dieser Jahreszeit nur bei einer geringen Anzahl der neuangekommenen Kranken fehlte, nichts Besonderes ergeben. Er hatte auch in den ersten Tagen seines Aufenthaltes im Spital erhöhte Temperatur (aber nicht über 38°). Der Stuhl aber war reiswasserähnlich; sonstige Cholerasymptome, wie Erbrechen, Verfall, fehlten. Da es öfters geschah, daß atypische, leichte Cholerafälle unter einer falschen Diagnose ins Epidemiespital No. 2 geschickt wurden, mußte auch der Stuhl dieses Kranken in dieser Hinsicht untersucht werden.

Auf Blutalkaliagar nach Dieudonné sind zahlreiche Kolonieen herausgewachsen, welche sich in keiner Beziehung von Cholerakolonieen unterscheiden ließen; auch morphologisch waren die isolierten Kommabacillen mit Choleravibrionen ganz identisch. Die Agglutination aber mit Choleraserum blieb aus. Die Beweglichkeit unserer Vibrionen war sehr lebhaft; sie besitzen eine endständige Geißel (Färbung nach Zettnow und nach Loeffler). Das Verhalten auf künstlichen Nährböden ergibt die nachfolgende Tabelle:

Tabelle I.

Nährboden	Wachstum
Peptonwasser	Kahmhaut. Intensive Cholerarotreaktion
Bouillon	Oberflächenhäutchen. Trübung
Gelatinestich	Verflüssigungstrichter
Alkalischer Agar-Agar	Etwas üppiger als Cholera. Durchsichtige Kolonieen
Milch	Unverändert
Neutralrot	„
Vergärungskölbchen	Ohne Gasbildung
Dieudonné	Große, choleraähnliche Kolonien

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Vibrio „Łobzów“ zeichnet sich durch eine bedeutende Hämolysinbildung aus. Dies ergibt nachfolgende Tabelle:

Tabelle II.

Stamm	Nährboden: schwach alkalisierter Agar-Agar, bis 42° erwärmt, mit 10-proz. Zusatz vom frisch defibriniertem Blut von							
	Kaninchen		Meerschweinchen		Pferd		Hammel	
	Stunden		Stunden		Stunden		Stunden	
	24	48	24	48	24	48	24	48
V. Łobzów	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+
V. cholerae 660	—	+	—	++	—	—	—	—
V. Miecznikowi	++	++	++	++	+	++	+	+
V. Elwers	++	++	++	++	—	+	+	++
V. albensis	+	+	++	++	—	+	—	—
V. Nasik	+	+	+	++	—	—	—	—

Anmerkung: + kleine Aufhellungszone, ++ größere Aufhellungszone, +++ fast ganze Platte aufgehellt.

Folgende Tierexperimente sind unternommen worden, um die Virulenz des Stammes „Łobzów“ festzustellen:

Meerschweinchen 1 bekam 8 mg einer 24-stündigen Schrägagarkultur intraperitoneal. Tot in 12 Stunden. Autoptisch wurde eine große Anzahl Vibrionen im Peritoneumexsudat festgestellt, aber keine Spur von Phagocyten. Kultur aus dem Exsudat entsprechend stark positiv.

Meerschweinchen 2 bekam 1 mg derselben Kultur intraperitoneal. Tot in 2 Tagen. Autopsie ergab reiches Pleuraexsudat, das Blut des Herzens nicht geronnen, im Peritoneum geringes Exsudat, zahlreiche Leukocyten, Bakterien mikroskopisch nicht nachweisbar. Milz kaum vergrößert, doch Hämorrhagieen an der Oberfläche vorhanden. Positive Kulturen ergaben: Peritoneumexsudat, Blut, Milzpulpe, Darminhalt.

Anstatt des so ungenauen Maßstabs, wie die Oese ist, haben wir genau auf einer analytischen Wage bestimmte Quantitäten der Agarkultur verwendet.

Wir verfuhren nach der Methode von Prof. Bujwid, die noch nicht veröffentlicht war: Das Röhrchen wird aus dem Brutschrank herausgenommen und, auf die Zimmertemperatur abgekühlt, rasch auf einer analytischen Wage abgewogen. Nun wird mit dem Platinspatel ein Teil von der Kultur entnommen, und das Röhrchen wieder rasch abgewogen. Die Differenz macht das Gewicht der entnommenen Kulturmenge aus. Die so abgewogene Menge der Kultur wird vom Platinspatel abgenommen und in gemessener Menge von steriler Fleischbrühe tüchtig geschüttelt. Wenn die Kulturmenge z. B. gleich 20 mg ist und mit 10 ccm Flüssigkeit vermengt wird, dann enthält 1 ccm der Flüssigkeit 2 mg Kultur.

Nach 3 Monaten und reichlicher Ueberimpfung wurden noch einmal 2 Meerschweinchen mit dem Vibrio „Łobzów“ infiziert:

Meerschweinchen 3 bekam 2 mg einer 18-stündigen Schrägagarkultur. Tot nach 13 Stunden. Autoptischer Befund mit dem des Meerschweinchen 2 identisch.

Meerschweinchen 4 bekam 0,2 mg derselben Kultur. Lebt.

Vibrio „Łobzów“ ist auch für Vögel hochvirulent:

Taube 1 bekam intramuskulär ca. 1 Oese einer 24-stündigen Schrägagarkultur. Tot nach 12—16 Stunden (in der folgenden Nacht). Im Blut waren Vibrionen nur mittels Kultur, nicht mikroskopisch, nachweisbar.

Nach 3 Monaten wiederholte Infektion ergab folgendes:

Taube 2 bekam 0,1 mg Kultur intramuskulär. Tot nach 48 Stunden. Blutkultur positiv.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Um zu entscheiden, ob der Vibrio „Łobzów“ lösliche Toxine bildet, wurde eine 10-tägige Bouillonkultur durch ein Berkefeld-Filter durchgesaugt und das Filtrat einem Meerschweinchen intraperitoneal eingespritzt.

Meerschweinchen 5 bekam 5 ccm Filtrat. Tot nach 8—10 Stunden.
Meerschweinchen 6 bekam 3 ccm Filtrat. Lebt.
Meerschweinchen 7 bekam 0,5 ccm Filtrat. Lebt.

Daraus ist ersichtlich, daß Vibrio „Łobzów“ Exotoxine in größerem Maße nicht bildet, daher gehört er sicher nicht in die Gruppe des V. Nasik.

Vibrio „Łobzów“ wird mit Choleraserum gar nicht agglutiniert, auch ist er nicht imstande, Choleraagglutinine aus einem spezifischen Serum zu absorbieren:

$^1/_4$ einer 18-stündigen Schrägagarkultur vom Vibrio „Łobzow“ und dasselbe Quantum einer echten Cholerakultur wurden in je 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Dann setzte man beiden Röhrchen je 0,4 ccm eines hochwertigen Choleraserums zu. Nach mehrstündigem Aufenthalt im Brutschrank und über Nacht bei Zimmertemperatur wurden beide Röhrchen scharf zentrifugiert und dann die Flüssigkeiten auf Agglutinine untersucht. Jenes Serum, welches mit dem Vibrio „Łobzów“ erhalten wurde, agglutinierte die Choleravibrionen bis zur Titergrenze, während das Serum, welches der absorptiven Wirkung von Choleravibrionen ausgesetzt wurde, kaum in der Verdünnung 1 : 100 agglutinierte.

Um die Verwandtschaft des Vibrio „Łobzów“ mit den übrigen choleraähnlichen Vibrionen, die uns zur Verfügung standen, zu studieren, wurde ein Kaninchenserum mit dem genannten Stamme dargestellt.

Kaninchen 1 bekam am 11. März 1915 eine intravenöse Injektion von 0,1 mg einer bei 58° in 1 Stunde abgetöteten Schrägagarkultur vom Vibrio „Łobzów“.

Kaninchen 2 bekam daneben eine ähnliche Portion von Vibrio Miecznikowi.

Am 13. März 1915 wurde bei den beiden Kaninchen ein starker Durchfall festgestellt. Beide nahmen bedeutend an Gewicht ab.

Am 20. März 1915 erfolgt die 2. intravenöse Injektion: von 0,15 mg V. Łobzów in Kaninchen 1 und 0,1 mg V. Miecznikowi in Kaninchen 2, von auf dieselbe Weise wie die vorigen abgetöteten Kulturen.

Am 26. März 1915 wurde das Serum auf Agglutinine geprüft. Die Resultate gibt Tabelle III an:

Tabelle III.

Kultur	1 : 20	1 : 30	1 : 40	1 : 60	1 : 80	1 : 120	1 : 160	1 : 240	1 : 320	1 : 480	1 : 640	1 : 960
A. Serum vom Kaninchen 1, welches gegen V. Łobzów immunisiert war.												
V. Łobzów	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	+	+
V. Miecznikowi	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
B. Serum vom Kaninchen 2, welches gegen V. Miecznikowi immunisiert war.												
V. Łobzów	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
V. Miecznikowi	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++
C. Normalserum vom Kaninchen 3, Kontrolle.												
V. Łobzów	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
V. Miecznikowi	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Anmerkung: +++ Agglutination komplett, ++ Agglutination noch ohne Lupe sichtbar, + Agglutination nur mit Lupe sichtbar.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ta-

Stamm	Serum von Kaninchen 1, welches gegen V. Łobzów immunisiert war									
	1:30	1:40	1:60	1:80	1:120	1:160	1:240	1:320	1:480	1:640
V. Miecznikowi	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
V. Dunbar	++	++	+	+	+	+	—	—	—	—
V. Elvers	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
V. Nasik I	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
V. Nasik II	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
V. albensis	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
V. Virchow	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
V. Finkler	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
V. cholerae 660	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Am 1. April folgte die 3. intravenöse Injektion von je 0,2 mg. Am 14. April wurde von beiden Kaninchen je eine Blutprobe entnommen. Der Titer des Serums vom 1. Kaninchen (immunisiert gegen V. „Łobzów") war für den Vibrio „Łobzów" 1:1800, für Vibrio Miecznikowi 1:80. Die Agglutination anderer Vibrionen ergibt die vorstehende Tabelle IV.

Das Serum des Patienten agglutinierte den V. „Łobzów" gar nicht, Choleravibrionen sehr schwach, bis 1:80, was wahrscheinlich auf die im Oktober 1914 erfolgte Choleraschutzimpfung zurückzuführen ist.

Der Kranke erholte sich sehr rasch von seinem Leiden, in wenigen Tagen war der Stuhl schon geformt. Die späteren, im Januar und Februar 1915 erfolgten Stuhluntersuchungen haben keine Vibrionen mehr nachgewiesen.

Von den in den letzten Zeiten isolierten Vibrionen scheint Vibrio „Łobzów" mit dem von Kandiba (5, 1911) beschriebenem Vibrio No. 1286 die größte Aehnlichkeit zu haben. Derselbe war sowohl für Meerschweinchen, wie Kaninchen, wie auch Tauben pathogen; leider gibt Kandiba nicht genau die tödliche Dosis an. Von dem Vibrio „Tarnopol" von Gasiorowski (4, 1912) unterscheidet sich Vibrio „Łobzow" durch seine hohe Virulenz den Vögeln gegenüber. Mit dem Vibrio „Stade" von Bernhard (2, 1911) hat er die Pathogenität für Meerschweinchen und Tauben gemeinsam, unterscheidet sich aber durch das Verhalten auf Gelatine.

Was die anderen, in der letzteren Zeit über ähnliche Themen publizierten Arten von Konschegg und Weltmann (7, 1913), Klimenko (6, 1914), Popoff-Tcherkasky (8, 1914), Baerthlein (1, 1913) und Crendiropoulo (3, 1913) anbelangt, so wurden die dort beschriebenen Cholera- und choleraähnlichen Vibrionen auf ihre Pathogenität für Vögel nicht geprüft, weswegen es keine Möglichkeit gibt, dieselbe mit Vibrio Miecznikowi und V. „Łobzów" zu vergleichen.

Auch an dieser Stelle wollen wir dem Direktor des Serotherapeutischen Instituts, Herrn Oberstabsarzt Prof. O. Bujwid, für die Unterstützung unseres Studiums durch Rat und Tat, und dem Kommandanten des Epidemiespitals No. 2, Herrn Reg.-Arzt Dr. S. Scharf, unseren herzlichsten Dank aussprechen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

belle IV.

Normales Kaninchenserum			Physiologische Kochsalzlösung	Anmerkung
1:60	1:120	1:240		
+	—	—	—	
+	+	+	—	
—	—	—	—	
—	—	—	—	
—	—	—	—	
—	—	—	—	
—	—	—	—	
+++	+++	+++	+++	Spontanagglutination
—	—	—	—	

Literatur.

1) Baerthlein, K., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913.
2) Bernhardt, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 71. 1911.
3) Crendiropoulo, Bull. de l'Instit. Pasteur. 1913.
4) Gasiorowski, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 72. 1912.
5) Kandiba, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 69. 1911.
6) Klimenko, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. 1914.
7) Konschegg u. Weltmann, Oesterr. Sanitätswesen. Okt. 1913.
8) Popoff-Tcherkasky, Dora, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914.

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der anaëroben Bakterien der Mundhöhle.

III. Mitteilung:

Ueber eine Spirochäte.

[Aus der Kaiserl. chirurgischen Universitätsklinik Kyoto, Japan (Prof. H. Ito)].

Von Assistent-Prof. **Y. Ozaki.**

Mit 7 Textfiguren.

Es ist schon lange bekannt, daß sich in der normalen Mundhöhle neben verschiedenen anderen Bakterien fast stets auch Spirochäten nachweisen lassen. Bezüglich ihrer morphologischen Eigenschaften stimmen sie miteinander gar nicht überein, so daß mehrere Forscher, wie v. Prowazek und E. Hoffmann, Mühlens und Hartmann, Gerber u. a. das Vorhandensein verschiedener Formentypen annehmen. Hinsichtlich ihrer pathologischen Bedeutung herrscht zurzeit noch keine völlige Klarheit. Dies hat in erster Linie seinen Grund darin, daß die Reinkultivierung der Spirochäten mit den größten Schwierigkeiten verbunden ist.

Was die Reinkulturen der Mundspirochäten betrifft, so haben wir nur sehr vereinzelte Berichte von Mühlens, Repaci, Noguchi und Shmamine.

Jüngst konnte ich während meiner Kulturversuche aus der Mundhöhle einen eigentümlichen Mikroorganismus aus dem Zahnbelag der normalen Mundhöhle isolieren, den ich nach seinem morphologischen und kulturellen Verhalten als eine Spirochäte bezeichnen will.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Reinzüchtung des Mikroorganismus aus Mischkultur. Ich bediene mich dazu einer dünnen, sterilisierten Glaspipette, deren engere Partie das Einführen eines Platindrahtes mit Leichtigkeit ermöglicht. In die Pipette wird halberstarrtes, noch ziemlich durchsichtiges, vorher auf 60° C erwärmtes Pferdeserum eingesogen, bis ihre engere Partie damit ganz gefüllt ist. Dann wird die Spitze der Pipette über der Flamme verschlossen. Nun wird der Zahnbelag am Zahnhals unter dem Zahnfleischrand, wo sich Spirochäten bekanntlich besonders zahlreich finden, mittels einer langen Platinnadel entnommen und in die Tiefe des gallertigen Nährbodens versenkt. Wichtig ist dabei, daß ein sichtbares Partikelchen vom Zahnbelag tief im Serum stecken bleibt. Schon nach 24-stündigem Aufenthalt im Brutschranke bei 37° C bemerkt man in den meisten Fällen eine deutliche Trübung des Nährbodens, welche in der Umgebung des Belagpartikelchens am stärksten ist. Die Serumsäule wird häufig durch eine geringe Gasentwickelung an einigen Stellen zersprengt. Man sterilisiert die Oberfläche der Pipette, sprengt dieselbe mittels einer sterilisierten Pinzette zunächst an einer Stelle ca. 2 cm von der sichtbaren Trübung des Mediums entfernt ab und wiederholt diese Prozedur, um der getrübten Stelle immer näher zu kommen. Jedesmal wird die heraussehende Serumpartie mittels der Platinnadel entnommen, und man fahndet entweder nach Färbung mit Karbolfuchsin oder im Dunkelfeld auf Spirochäten. Sobald man das erste Exemplar derselben auffindet, macht man aus dem Medium der betreffenden Stelle mehrere Stichkulturen in halberstarrtem Pferdeserum. Nach Impfung verschließt man die Kulturröhrchen luftdicht und hält sie 7—10 Tage im Brutschrank bei 37° C. Nach 2—3 Tagen kommen sehr oft einige kleine, undurchsichtige Kolonieen von anaëroben Begleitbakterien entlang dem Impfstiche zum Vorschein. Am 5., spätestens 7. Tage kann man in einer Anzahl von Kulturröhrchen einige 1—2 mm große, rundliche, hauchartige Trübungen wahrnehmen. Das Aufsuchen der Kolonieen, die wegen ihrer Zartheit leicht übersehen werden können, gegeschieht am besten durch schiefe Beleuchtung auf dunklem Hintergrund. Die Kolonieen werden mittels einer geraden oder an der Spitze rechtwinkelig gekrümmten Kapillarpipette sorgfältigst aufgesogen zur Anlegung neuer Stichkulturen, die sich bei weiterer Beobachtung fast ausnahmslos als rein erweisen.

Kulturelles Verhalten. Das Wachstum des Mikroorganismus erfolgt nur bei Bruttemperatur unter strenger Anaërobiose, nie aber bei niedrigeren Temperaturen.

Die Stichkultur in halberstarrtem Pferdeserum zeigt, je nach der Menge des Aussaatmaterials, entweder einige isolierte, hauchartige, außerordentlich durchsichtige Kolonieen oder eine ununterbrochene zarte Trübung um den Impfstich herum. Die Kulturen gehen in den anfänglichen Generationen nach 5—7 Tagen, in späteren etwas früher an. Die gut isolierten Kolonieen stellen zarte, wolkige Trübungen von kugeliger oder etwas unregelmäßig rundlicher Gestalt mit einem etwas dichteren Zentrum dar. Später wird die mittlere Partie der Kolonieen häufig etwas durchsichtig, während die Trübung sich nach der Peripherie hin allmählich vergrößert. Nach längerem Wachstum und besonders bei reichlicher Beimpfung tritt eine diffuse Trübung fast des ganzen Nährbodens ein, wobei nur die obere aërobe Zone unverändert bleibt. Das Serum wird nicht verflüssigt. Eine etwaige Gasbildung im Nährboden ist nicht nach-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zuweisen. Im allgemeinen gedeiht unser Mikroorganismus in halbstarrem Pferdeserum nicht sehr gut.

Die Stichkultur in Ascitesagar, das sich aus gleichen Teilen von Ascitesflüssigkeit und schwach alkalischem Agar zusammensetzt, zeigt schon am 3. Tage längs des Impfstiches eine deutliche wolkige Trübung, die nach einigen Tagen sich ziemlich rapid vergrößert und etwas undurchsichtig wird. Es entsteht häufig, wenn ein geringeres Material zur Impfung verwendet wird, eine Kette von perlschnurartig, mehr oder weniger dicht aneinander gereihten Kolonieen, welche zuweilen die Tendenz haben, sich vom Stichkanal aus etwas exzentrisch nach einer Seite hin zu entwickeln. Nach mehreren Tagen, besonders wenn das Nährmedium weich ist, sieht man oft hier und da zahlreiche kleine isolierte Kolonieen, die nicht nur in der direkten Umgebung des Stichkanals, sondern auch weit entfernt von demselben gewachsen sind.

In Schüttelkulturen in Ascitesagar (1 : 1) kommen die Kolonieen nach 3—4 Tagen zum Vorschein. Die einzelnen Kolonieen sind zu Beginn zart, hauchartig und leicht zu übersehen, später vergrößern sie sich allmählich zu weißlichen, weniger transparenten, wolkigen Trübungen von kugeliger Gestalt. Die Größe der Einzelkolonieen beträgt bei üppigem Wachstum ungefähr 3—5 mm. Alle Kolonieen gehen stets ohne scharfe Abgrenzung in die Umgebung über.

Die Schüttelkulturen in Ascitesagar, der sich aus einem Teile Ascitesflüssigkeit und zwei Teilen Agar zusammensetzt, decken sich mit den eben erwähnten fast vollkommen, außer daß die Kolonieen etwas kleiner und weniger transparent sind.

In Ascitesflüssigkeit, die mit Agar überschichtet wird, entwickelt sich der Mikroorganismus schon nach einigen Tagen ziemlich gut, indem die Flüssigkeit leicht und diffus getrübt wird. Später bildet sich eine geringe Menge von flockig-wolkigem, weißlichem Bodensatz.

Ein ähnliches Bild zeigen die Kulturen in Ascitesbouillon (Ascitesflüssigkeit und schwach alkalische Fleischbrühe āā).

Alle Kulturen sind anfangs nicht stinkend. Erst nach 2—3 Wochen verbreiten sie einen ganz unbedeutenden Gestank. Weder Indol, noch Schwefelwasserstoff wird gebildet.

Auf einfachem Agar sowie auf Traubenzuckeragar kann man keine Entwickelung des Mikroorganismus konstatieren.

Tierversuche. Der Mikroorganismus hat sich in seiner 4. Generation bei subkutaner und intraperitonealer Verimpfung für Kaninchen, Meerschweinchen und Mäuse als fast nicht pathogen erwiesen. Durch die subkutane Einverleibung einer größeren Menge von Impfmaterial konnte ich bei Kaninchen und Meerschweinchen eine leichte Induration an der Injektionsstelle entstehen sehen, welche im weiteren Verlaufe spontan verschwand.

Morphologie. Zum Studium der morphologischen Merkmale bediente ich mich des Materials aus Kulturen in weichem Ascitesagar und in halberstarrtem Pferdeserum. Die Mikroorganismen in Reinkultur zeigen eine gewisse Polymorphie, indem verschiedene Formentypen nebeneinander existieren. Sie sind in Pferdeserum meistens 4—8 μ lange Schrauben von sehr ungleichen Windungen. Daneben finden sich kürzere, kaum 2 μ lange und längere, über 20 μ lange Exemplare. Die Dicke beträgt in Giemsa-Präparaten $^1/_3$—$^1/_2$ μ. Auch die Windungen sind der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

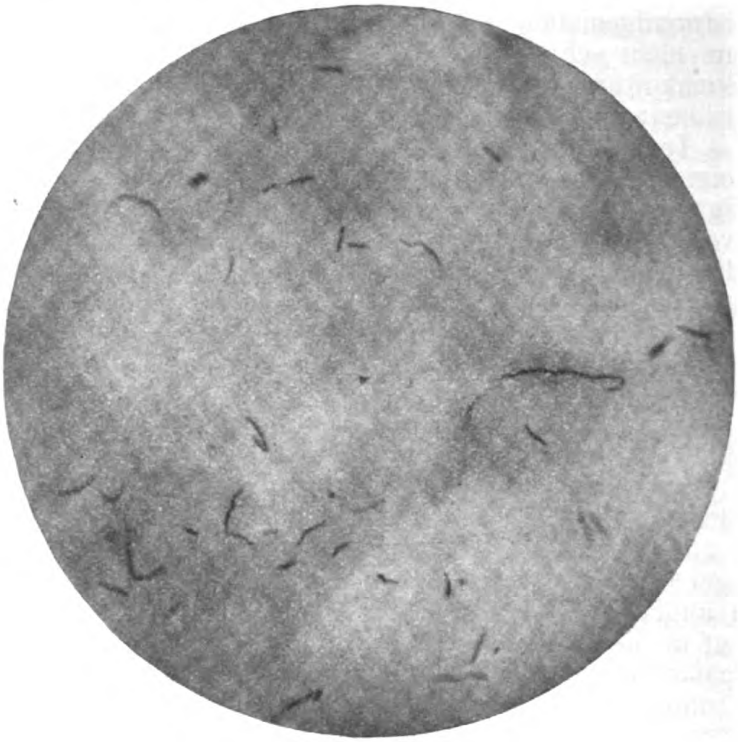


Fig. 1.

Fig. 2.

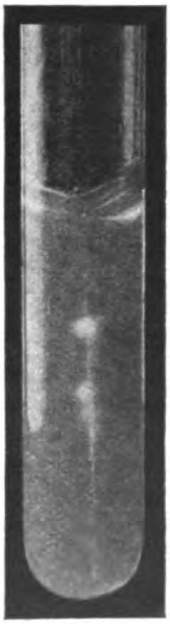


Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 1. Reinkultur der Spirochäten in halberstarrtem Pferdeserum. 3. Generation, 10 Tage alt. Giemsa-Färbung 1 Stunde. Vergr. 1000-fach.
Fig. 2. Dieselbe. 15 Tage alt.
Fig. 3. Stichkultur der Spirochäten in Ascitesagar (1 : 1). 5. Generation, 8 Tage alt.
Fig. 4. Dieselbe. 4. Generation. 8 Tage alt.
Fig. 5. Schüttelkultur der Spirochäten in Ascitesagar (1 : 1). 6. Generation, 10 Tage alt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:15 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zahl und Weite nach sehr wechselnd. Bei längeren Formen kann man zuweilen deren 8 und noch mehr zählen, in der Regel jedoch nur 3—4. Im allgemeinen sind die Windungen sehr unregelmäßig, flach und bei kürzeren Formen sehr unbedeutend oder sogar als solche kaum erkennbar. Außerdem sieht man nicht selten längere, wenig gewundene oder fast gerade Elemente und solche mit mehrfachen Windungen und schleifenförmig aufgewickelten Enden. In Ascitesagar sind die Mikroorganismen gewöhnlich etwas kleiner als in Pferdeserum und haben manchmal fast keine Windungen. Bei kürzeren, wie gestreckt aussehenden Exemplaren kann man oft bei genauer Betrachtung Andeutungen von einigen Windungen erkennen. Die Enden sind leicht zugespitzt oder etwas abgerundet.

Mit den gebräuchlichen Farblösungen ist der Mikroorganismus schwer färbbar; er färbt sich nach Giemsa etwas besser. Bei stark gefärbten Giemsa-Präparaten ist der Farbenton blauviolett, in späteren Generationen und auch in schwach gefärbten Präparaten blaßrötlich bis

Fig. 6.

Fig. 7.

Fig. 6. Reinkultur des Bacillus fusiformis in 1-proz. Traubenzuckeragar. 10. Generation, 2 Tage alt. Karbolfuchsinfärbung. Vergr. 500-fach.
Fig. 7. Dieselbe. 8. Generation, 10 Tage alt. Karbolfuchsinfärbung. Vergr. 500-fach.

bläulichrot. Die dickeren Elemente sind oft etwas besser gefärbt als die dünneren. Die schlechte Färbbarkeit nimmt mit dem Alter der Generationen ziemlich rapid zu. Uebrigens sieht man häufig unregelmäßig absatzweise blaßrötlich gefärbte Individuen.

Eine ausgesprochene Eigenbewegung kann man im Dunkelfeld nicht nachweisen, wenn auch bei manchen Exemplaren geringe Ortsveränderungen, seitliche Beugungen und Zuckungen des Leibes deutlich wahrzunehmen sind.

Der obenerwähnte Mikroorganismus ist aus kulturellen, tinktoriellen und morphologischen Gesichtspunkten wohl als eine Mundspirochäte anzusehen. Die wesentliche Abweichung unseres Mikroorganismus von den gewöhnlich in der normalen Mundhöhle anzutreffenden Spirochäten ist jedoch die, daß seine Exemplare manchmal nur undeutliche Windungen besitzen und sogar als beinahe gestreckte Gebilde erscheinen, obschon ich beim Untersuchen von Ausgangsmaterial (d. h. Mischkultur in der Kapillarpipette) ausschließlich regelmäßig gestaltete Schraubenformen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und niemals gerade Elemente zu Gesicht bekommen hatte. Ob diese atypischen Elemente wirklich von den typischen herstammten, kann ich zurzeit nicht mit Sicherheit entscheiden.

Wie oben erwähnt, hat unser Mikroorganismus bezüglich seines kulturellen Verhaltens viel Gemeinsames mit den bisher beschriebenen Mundspirochäten. Namentlich sind seine Kulturen in Serumagar denen der Mühlensschen, Shmamineschen und Noguchischen Spirochäten sehr ähnlich. Alle diese Stämme bilden in Serumagar Kolonieen in Form von diffusen Trübungen.

Was die Bildung des Riechstoffs in Kulturen angeht, so verbreitet die Spirochaeta dentium von Mühlens und Shmamine einen übeln Geruch. Treponema microdentium Noguchi produziert einen Stoff, der zunächst sehr schwach riecht und erst nach ungefähr 3 Wochen charakteristisch fötid wird. Unser Mikroorganismus verbreitet dagegen anfangs gar keinen und später nur einen unbedeutenden Gestank.

Morphologisch ist unser Mikroorganismus mit den oben erwähnten Stämmen nicht völlig identisch. Seine Elemente haben manchmal wenige flache, weite und unregelmäßige Windungen. Außerdem nimmt man eine nicht geringe Anzahl von kurzen, zuweilen auch mittellangen, fast gerade aussehenden Exemplaren wahr. In anfänglichen Generationen und besonders in halberstarrtem Pferdeserum herrschen die deutlich gewundenen Formen vor, während in späteren Generationen die geraden überwiegen.

Shmamine berichtet über „nadelförmige Bakterien", die er oft als Begleiter der Pallida in Mischkulturen fand. Sie waren spindelförmig, gerade und mit zugespitzten Enden versehen. Sie hatten keine Windungen, wenn auch einzelne leicht gebogene Exemplare nachzuweisen waren. Auch in Mischkulturen von Spirochaeta dentium sah der Autor diese Bakterien, die an Größe den Zahnspirochäten entsprachen. Es gelang ihm einmal, dieselben aus einer Pallida-Mischkultur reinzuzüchten. Sowohl der Charakter der Kolonieen als auch die Färbbarkeit der Bakterien waren mit denen der Spirochäten völlig identisch. Ueberdies zeigten sie in der zweiten Generation eine überraschende Formveränderung, indem zahlreiche Exemplare Uebergangsformen zu den Spirochäten und einige derselben ausgesprochene Refringens-Formen darboten. Sie besaßen keine lebhafte Eigenbewegung und zeigten bei einigen Exemplaren bloß eine Art von Zuckung. Ob diese Bakterien schließlich völlig in die Spirochäten übergegangen sein würden, konnte der Autor nicht feststellen, da sie in der dritten Generation ihm verloren gingen. Nun weisen die „nadelförmigen Bakterien" Shmamines einige große Aehnlichkeiten mit unserem Mikroorganismus hinsichtlich ihrer Form, Beweglichkeit usw. auf. Der auffallende mikroskopische Unterschied zwischen den beiden ist jedoch der, daß bei dem Mikroorganismus Shmamines sämtliche Exemplare in der ersten Generation ausnahmslos gerade oder höchstens leicht gebogen waren, und daß kein einziges Element mit Windungen angetroffen wurde, während bei unserem Mikroorganismus außer geraden Exemplaren stets mehr oder weniger gewundene Formen festzustellen sind.

Die kurzen, geraden Formen unseres Mikroorganismus haben ferner einige morphologische Aehnlichkeiten mit dem Bacillus fusiformis, den ich früher aus der normalen Mundhöhle reinkultivierte (s. Fig. 6 u. 7). Beide sind aber gar nicht identisch, wie es auch Shmamine in seiner

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Arbeit hervorhebt. Dieser Bacillus ist mit den gewöhnlichen Farblösungen gut zu färben. In den Bakterienleibern sieht man 1—2, zuweilen mehr, mit verschiedenen Anilinfarben intensiv färbbare, kokkenähnliche Körnchen. Außerdem wächst der Bacillus auf gewöhnlichen Nährböden ohne Serumzusatz und bildet scharf gegen die Umgebung abgegrenzte Kolonieen.

Endlich hat die Spirochaeta Repacis, die von dem Autor aus der Mundhöhle isoliert wurde, mit unserem Mikroorganismus nichts zu tun. Diese Spirochäte hat regelmäßige Windungen, deren Zahl sehr variabel ist. Die Kolonieen zeigen sich in Form von kleinen, tautropfenartigen Punkten. Wenn sie sich den künstlichen Nährböden anpassen, erreicht ihr Durchmesser die Größe von $^1/_2$—2 mm; dann sind sie scheibenförmig, scharfrandig und durchscheinend. Die Spirochäte zeigt eine rapid oszillierende und eine rotierende Bewegung. Sie färbt sich mit allen gewöhnlichen Farblösungen leicht und gleichmäßig. Nach dem Autor soll sie morphologisch zwischen Spirochaeta buccalis und Sp. dentium stehen.

Miller nimmt nur eine Mundspirochätenart (Spirochaeta dentium s. denticola) an, welche eine gewisse Polymorphie aufweise. Manche Forscher aber nehmen, wie eingangs erwähnt, mehrere Formentypen von Mundspirochäten an, ohne jedoch entscheiden zu können, ob jeder einzelne Typus eine besondere Art ist. Erst in neuerer Zeit gelang es Noguchi, zwei verschiedene Mundspirochäten, Treponema microdentium und Treponema macrodentium, reinzuzüchten. Außerdem hat die Spirochaeta Repacis einige kulturell charakteristische Eigenschaften, welche wohl den anderen Spirochäten fehlen. Somit dürften in der normalen Mundhöhle verschiedene Spirochätenarten vorkommen.

Alles in allem sind unsere Kenntnisse über die Mundspirochäten noch sehr dürftig. Wir möchten aus unserer Beobachtung nur so viel für feststehend halten, daß unser Mikroorganismus und wahrscheinlich auch andere Stämme von Mundspirochäten, je nach der Beschaffenheit des Nährbodens, dem Alter der Kulturen usw., eine auffallende Polymorphie zeigen, wie schon von mancher Seite in der Pallida-Kultur hervorgehoben worden ist. Diese Vielgestaltigkeit der Spirochäten wurde von Shmamine auch bei seiner Spirochaeta dentium und seinen „nadelförmigen Bakterien“ beobachtet.

Literatur.

1) Gerber, F., Ueber Spirochäten in den oberen Luft- und Verdauungswegen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910. p. 508.)
2) Hoffmann, E., und v. Prowazek, S., Untersuchungen über die Balanitis- und Mundspirochäten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41. 1906. p. 741, 817.)
3) Miller, W. D., Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Leipzig 1892.
4) Mühlens, P., Ueber Züchtung von Zahnspirochäten und fusiformen Bacillen auf künstlichen (festen) Nährböden. Vorläuf. Mitteil. (Dtsche med. Wochenschr. 1906. p. 797.)
5) — u. Hartmann, M., Ueber Bacillus fusiformis und Spirochaeta dentium. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 55. 1906. p. 81.)
6) Noguchi, H., Cultural studies on mouth Spirochaetae (Treponema microdentium and macrodentium). (The Journ. of experim. Med. Vol. 15. 1912. p. 81.)
7) Ozaki, Y., Zur Kenntnis der anaëroben Bakterien der Mundhöhle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 62. 1912. p. 76.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

8) Repaci, G., Isolement et culture d'un spirochète de la bouche. (Compt. rend. hebdom. d. séanc. et mém. Soc. de Biol. T. 70. 1911. p. 784.)
9) Shmamine, T., Ueber die Reinzüchtung der Spirochaeta pallida und der nadelförmigen Bakterien aus syphilitischem Material, mit besonderer Berücksichtigung der Reinkultur von Spirochaeta dentium und des Bac. fusiformis aus der Mundhöhle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. 1912. p. 311.)

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über das Virus der Hühnerpest.

[Aus dem bakteriol. Laboratorium des K. u. K. Militärsanitätskomitees in Wien.]

Von Prof. **R. Doerr** und Frau **R. Pick.**

Die im folgenden wiedergegebenen Studien über das Virus der Hühnerpest wurden Ende Januar 1914 begonnen und mußten am 7. August abgebrochen werden, als der eine von uns auf den russischen Kriegsschauplatz abging. Die erzielten Ergebnisse sind zwar lückenhaft, in mancher nicht unwesentlichen Beziehung jedoch soweit als gesichert zu betrachten, daß wir uns zu einer vorläufigen Mitteilung derselben entschlossen, um so mehr als der Ausbau und die Fortführung der begonnenen Arbeit in absehbarer Zeit kaum möglich sein dürfte. Auf eine genaue Berücksichtigung der das gleiche Thema behandelnden Literatur müssen wir notgedrungen verzichten und behalten uns vor, etwaige Versäumnisse nachzuholen, sobald uns die Behelfe wieder zugänglich werden.

I.

Verhalten des Virus in der Zirkulation und in den Organen resistenter und empfänglicher Tierspecies.

In der Epidemiologie des Phlebotomus-Fiebers, welches, ebenso wie die Hühnerpest, durch ein filtrierbares Virus hervorgerufen wird, existiert ein noch wenig aufgeklärter Punkt, die Ueberwinterung der Krankheitskeime. Die übertragenden Psychodideen sterben mit Eintritt der kalten und regnerischen Saison ausnahmslos ab; aus dem Blute der kranken Menschen verschwindet der spezifische Erreger schon am 2. Krankheitstage, und Neuerkrankungen oder Rezidive wurden in der Winterperiode nie beobachtet; wo hat man also die Infektionsquelle für die zu Beginn der heißen Jahreszeit aus den Puppen ausschlüpfenden Phlebotomus-Mücken zu suchen? Doerr und Russ schlossen aus verschiedenen Beobachtungen, daß höchstwahrscheinlich ein hereditärer Uebergang des Virus von der infizierten, weiblichen Mücke auf ihr überwinterndes Gelege stattfindet. Analogien für derartige Vorgänge kennen wir ja bei der afrikanischen Recurrens (Ornithodorus moubata) und beim Gelbfieber (Stegomyia fasciata), und nach den jüngsten Forschungen über das Fleckfieber und die Kleiderlaus dürften sie auch bei dieser Infektion bestehen. Beweise für die von Doerr und Russ vertretene Ansicht liegen indes nicht vor, und wir hatten daher den Plan gefaßt, im Hochsommer 1914 an das Problem der Ueberwinterung der Phlebotomus-Fieberkeime auf breiter Basis experimentell zu gehen. Unter den zahlreichen möglichen Lösungen, von denen gerade die interessantesten und bedeutungsvollsten noch gar nicht ins Auge gefaßt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wurden, figurieren auch die „Virus-Reservoire", d. h. die Kombination, daß die infizierten Phlebotomen Tiere stechen, die zwar infolge ihrer natürlichen Immunität nicht erkranken, aber das Virus lange Zeit im strömenden Blute beherbergen. Da die genannten Mücken erwiesenermaßen nicht nur auf verschiedenen Warmblütern, sondern auch auf Reptilien, Raupen etc. Blut saugen, so war diese Angelegenheit jedenfalls der Erwägung und Prüfung wert. Beim Phlebotomus-Fieber kann man nun nur am Menschen Virulenzprüfungen vornehmen, und es schien daher geraten, die ganze Frage zunächst technisch und methodologisch an einem anderen filtrierbaren, experimentell bequemeren Virus, z. B. dem der Hühnerpest, durchzugehen, um die Versuche beim Phlebotomus-Fieber möglichst ökonomisch zu gestalten.

Wir erwähnen diese Vorgeschichte deshalb so ausführlich, um die Versuchsanordnung zu begründen, deren wir uns bedienten. Ueber den Aufenthalt des Hühnerpestvirus im Organismus empfänglicher und immuner Tiere liegen bereits ausführliche Angaben vor, soweit uns erinnerlich, von Centanni, Lode und Gruber, Greve, Scheurlen und Buhl, Kraus und Doerr, Kleine, Maggiora und Valenti, Ostertag und Wolffhügel. Diese Daten waren für uns jedoch nicht verwertbar. Zunächst stößt man auf vielfache Widersprüche; Centanni, Lode und Gruber, in gewissem Sinne auch Kraus und Doerr, halten z. B. Kaninchen für infizierbar, Maggiora und Valenti, Scheurlen und Buhl, Ostertag und Wolffhügel berichten das Gegenteil. Dann wendeten fast alle Autoren den subkutanen, intramuskulären oder intracerebralen Infektionsmodus an, während wir für unsere Zwecke das Virus direkt in die Gefäße brachten, und zwar in genau abgemessenen Mengen. Endlich berücksichtigten wir stets die zuerst von Landsteiner und Russ gefundene Tatsache, daß das Virus im Blute pestkranker Hühner nicht gleichmäßig verteilt ist, oder richtiger, daß nach dem Defibrinieren virulenten Blutes das Serum weniger infektiös scheint als die gewaschenen Erythrocyten. Um ein gesundes Huhn zu infizieren, benötigt man 0,00001, bisweilen sogar 0,001 ccm Serum, nur selten ist noch 0,000001 ccm virulent; vom Bodensatz gewaschener Erythrocyten genügt ein Kubikzentimeter einer Verdünnung von 1 : 10—1000 Millionen. Auf den ersten Blick scheint nur der Schluß denkbar, daß die Erythrocyten des kranken Huhnes mehr Keime enthalten (sei es intraglobulär oder der Oberfläche anhaftend) als das Serum; doch ist noch eine andere Deutung zulässig, auf die wir später zurückkommen. Jedenfalls schien es uns notwendig, den Unterschied zwischen „Serum-Virus" und „Erythrocyten-Virus" exakt festzuhalten, und es wird sich zeigen, daß derselbe auch im Verhalten im lebenden, natürlich immunen Tier sehr deutlich zum Ausdruck gelangt.

A. Persistenz des Virus in natürlich immunen Tieren.

Kaninchen.

1. Versuch.

Ein Huhn wird am 8. Dez. 1913 mit virulentem Hühnerhirn intramuskulär infiziert; am 9. Dez. abends getötet, das Blut der Gerinnung überlassen und das abgeschiedene, **erythrocytenfreie Serum** 2 Kaninchen in der Menge von je 0,8 ccm in die linke Ohrvene eingespritzt. Den beiden Kaninchen (No. 957 und No. 975) werden nach 2 und nach 17 Stunden Aderlässe aus der rechten Ohrvene gemacht, die Blutproben defibriniert und je 1 ccm einem gesunden Huhne intramuskulär appliziert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Resultat:

Kaninchen No. 957.

Aderlaß nach 2 Stunden: 1 ccm defibrinierten Blutes erhält Huhn No. 8; bleibt dauernd gesund.

Aderlaß nach 17 Stunden: 1 ccm Blut überimpft auf Huhn 9; dasselbe Ergebnis.

Kaninchen No. 975.

Aderlaß nach 2 Stunden: 1 ccm übertragen auf Huhn 10; bleibt gesund.

Aderlaß nach 17 Stunden: 1 ccm übertragen auf Huhn 11; bleibt gesund.

48 Stunden nach der intravenösen Zufuhr des virulenten Hühnerpestserums werden beide Kaninchen getötet.

Huhn	12	erhält	das Gehirn	von	Kaninchen	957	intramuskulär.	Ueberlebt.
„	13	„	„ Knochenmark	„	„	957	„	„
„	14	„	„ Gehirn	„	„	975	„	„
„	15	„	„ Knochenmark	„	„	975	„	„

Beträchtliche Virusmengen schwinden also aus der Blutbahn und den Organen von Kaninchen (Körpergewicht 2,5 kg) komplett, und zwar innerhalb sehr kurzer Zeit. Doch war in diesem Versuche eine Titration der Virulenz des benutzten Hühnerpestserums unterlassen worden; es war daher unbekannt, welche Verdünnung das virulente Serum in vitro ohne Einbuße seiner Infektiosität vertrug. Im Kaninchen erfährt ja das injizierte Serum gleichfalls eine sofortige Dilution durch das zirkulierende Blut, die allerdings kaum über 1 : 250 hinausgeht; immerhin schien es wünschenswert, diesem Umstand in einem 2. Versuch Rechnung zu tragen.

2. Versuch.

Huhn 16 wird intramuskulär infiziert am 25. Jan. 1914; um 2^{h} nachmittags am 26. Jan. wird es entblutet; das gewonnene **Serum erythrocytenfrei** zentrifugiert und abgehebert. Seine Virulenz ergibt sich aus folgender Reihe:

Huhn	17	erhält	0,0001 ccm	26. Jan.,	† 28. Jan.	nach 44	Stunden
„	**18**	„	**0,00001** „	**26. Jan.,**	**† 28. Jan.**	„ **49**	„
„	19	„	0,000001 „	26. Jan.,	überlebt dauernd.		

Von diesem Serum erhielt Kaninchen No. 993 zur gleichen Zeit 1,25 ccm intravenös. Nach 2, 16 und 42 Stunden je ein Aderlaß am anderen Ohr. Blut defibriniert.

Aderlaß nach 2 Stunden: 1 ccm Huhn 20 intramuskulär; stirbt an Hühnerpest nach 120 Stunden.

Aderlaß nach 16 Stunden: 1 ccm Huhn 21 intramuskulär; überlebt.

„ „ 42 „ : 1 ccm „ 22 „ „

Das Virus war also nach 2 Stunden fast komplett, nach 16 und 42 Stunden vollkommen aus dem Blute des Kaninchens eliminiert.

Meerschweinchen.

3. Versuch.

Das gleiche „**Serumvirus**", wie im 2. Versuch, zur gleichen Zeit verwendet. Drei Meerschweinchen erhalten je 0,125 ccm intravenös (Jugularis); die Tiere werden nach 2, 16 und 42 Stunden aus dem aseptisch freigelegten Herzen entblutet, das Blut defibriniert, und mit je 1 ccm der drei Blutproben gesunde Hühner intramuskulär gespritzt.

Huhn	23	erhält	1 ccm	Blut des	nach	2^{h}	getöteten	Meerschweinchens
„	24	„	1 ccm	„ „	„	16^{h}	„	„
„	25	„	1 ccm	„ „	„	42^{h}	„	„

Alle Hühner überleben dauernd. Das Verhältnis der injizierten Serummenge zum Körpergewicht des Meerschweinchens (250 g) war dasselbe wie bei dem Kaninchen des zweiten Versuches, bezifferte sich also auf 1 : 2000, das Verhältnis zur Blutmenge etwa auf 1 : 200. Das Serum vertrug aber eine 100 000-fache Verdünnung ohne sichtliche Abnahme der Infektiosität. Das gleiche Resultat ergab der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

4. Versuch,

der mit einem anderen, annähernd gleich virulenten **Hühnerpestserum** (Huhn 30) angestellt wurde, mit dem einzigen Unterschied, daß die injizierten Serummengen 10-mal so groß waren.

Virulenz des Hühnerpestserums:

Huhn 31	erhält	0,0001	ccm	† 35ʰ
„ **32**	„	**0,00001**	„	**† 52ʰ**
„ 33	„	0,000001	„	Ueberlebt.

Vier Meerschweinchen (A, B, C, D) erhalten je 1,25 ccm dieses Serums in die linke Jugularis; A wird nach 1ʰ, B nach 2ʰ, C nach 5ʰ und D nach 24ʰ aus dem Herzen entblutet, die Blutproben defibriniert.

Huhn 34	erhält	1 ccm	defibrin.	Blut	von	A } Ueberleben sämtlich
„ 35	„	1 ccm	„	„	„	B
„ 36	„	1 ccm	„	„	„	C
„ 37	„	1 ccm	„	„	„	D

Das Virus war also schon nach 1 Stunde verschwunden; die Steigerung der Virusmenge auf das 10-fache war für das Ergebnis irrelevant. Es war nun von Interesse, die Anordnung zeitlich und quantitativ weiter abzustufen und statt der 10-fachen Serummenge ein 10mal virulenteres Serum in der gleichen Quantität wie im 3. Versuch zu erproben. In der Tat gab besonders die Interpolierung neuer Zwischenwerte ein sehr klares Bild von der rasch fortschreitenden Reduktion der Hühnerpestkeime in der Blutbahn des Meerschweinchens.

5. Versuch.

Das am 2. Febr. infizierte Huhn No. 40 wird im schwerkranken Zustande **am 4.** Febr. vormittags entblutet. Sein **Serum** wirkte in völlig **erythrocytenfreiem** Zustande wie folgt.:

Huhn 41	erhält	0,0001	ccm	† 6. Febr. früh
„ 42	„	0,00001	„	† 6. „ Nachmittag
„ **43**	„	**0,000001**	„	**† 9. „ früh, nach 12ʰ**

Von diesem Serum bekommen die Meerschweinchen E, F, G je 0,125 ccm intravenös. Nach 15, 25 und 60 Minuten wird je eines der Meerschweinchen aus dem Herzen entblutet, das Blut defibriniert und abgestufte Mengen gesunden Hühnern intramuskulär eingespritzt.

Resultat:

a) Vom Blute des nach 15 Minuten getöteten Meerschweinchens erhält:

Huhn 44	0,1	ccm	am 4. Febr.,	† 10. früh	
„ **45**	**0,01**	„	„ **4.** „	**† 14.** „	
„ 46	0,001	„	„ 4. „	Ueberlebt	
„ 47	0,0001	„	„ 4. „	„	

b) Vom Blute des nach 25 Minuten getöteten Meerschweinchens erhält:

Huhn 48	**0,1**	**ccm**	**am 4. Febr.,**	**† 10. früh**	
„ 49	0,01	„	„ 4. „	Ueberlebt	
„ 50	0,001	„	„ 4. „	„	

c) Vom Blute des nach 60 Minuten getöteten Meerschweinchens erhält:

Huhn 51	**1,0**	**ccm**	**am 4. Febr.,**	**† 23. Febr.**	
„ 52	0,1	„	„ 4. „	Ueberlebt	
„ 53	0,01	„	„ 4. „	„	
„ 54	0,001	„	„ 4. „	„	

Aus diesem ganz einwandfreien Experiment geht hervor, daß die Vernichtung des Hühnerpestvirus im Blute des Meerschweinchens schon nach wenigen Minuten weit gediehen ist; nach $^1/_4$ Stunde wirkt 0,1 ccm des Meerschweinchenblutes schwächer wie 0,000001 ccm des Originalvirus, während man bei intaktem Kreisen des intravenös zugeführten Hühnerserums eine Infektiosität erwarten würde,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die mindestens 0,0001 ccm entspricht. Die Keimzahl muß um diese Zeit schon auf weniger als 1 Proz. der injizierten Menge gesunken sein. Nach 25 Minuten ist der Prozeß ersichtlich fortgeschritten, nach 1 Stunde fast beendet.

Auffällig sind dabei die Spättode der Hühner 44 und 48, besonders aber die von 45 und 51. Handelt es sich um Hühnerpest? Gewiß, das lehren neue Uebertragungen des Hirnes dieser Hühner auf andere gesunde, welch letztere unter typischen Erscheinungen eingingen. Auch ein anderer Einwand kann abgewiesen werden, daß nämlich die Hühner zwar an Pest verendeten, daß aber die Infektion nicht eine Folge des Versuches, sondern einer zufälligen Stallinfektion war. Dagegen spricht schon das reihenweise Absterben der Hühner, je nach der erhaltenen Dosis und je nach der Zeit, welche bei den Meerschweinchen zwischen Virusinjektion und Blutentnahme verstrich. Auch hatten wir natürlich die Experimente mit allen möglichen Kautelen umgeben, jedes Huhn in einen besonderen im Dampf sterilisierten Käfig gesetzt, die Käfige weit voneinander aufgestellt etc.; endlich bedürfen die gangbaren Vorstellungen über die Art der natürlichen Ansteckung bei Hühnern entschieden einer Korrektur, wie wir das im Verlaufe der Arbeit einsehen lernten (s. unten). Da also solche Zweifel ungerechtfertigt sind, muß man natürlich die Frage aufwerfen, ob der Tod eines infizierten Huhnes nach 6—19 Tagen durch eine rein quantitative Reduktion des Virus erklärbar ist, oder ob der Aufenthalt im Meerschweinchen nicht etwa zu qualitativen Aenderungen des Erregers im Sinne einer Abschwächung bzw. Virulenzabnahme führt. Wir möchten uns für letztere Annahme entscheiden aus folgenden Gründen: Zunächst ist es nicht möglich, durch einfache Verdünnung des Originalvirus (sei es nun Serum oder gewaschene Erythrocyten eines an Pest erkrankten oder verendeten Huhnes) einen auch nur annähernd gleich protrahierten Verlauf der Infektion zu erzeugen. Nur ein einziges, mit einem millionfach verdünnten Serumvirus gespritztes Huhn sahen wir nach 120 Stunden an Pest zugrunde gehen (Huhn No. 43); sonst rissen die Auswertungen der Virulenz ausnahmslos bei einer bestimmten Verdünnung ab, ohne daß sich Uebergänge, die durch Verlängerung des Infektionsprozesses charakterisiert waren, konstatieren ließen. Ein paar solcher Beispiele seien hier angeführt:

Serumvirus	1	Huhn	17	0,0001	ccm	† 44 Stunden
		„	18	0,00001	„	† 49 „
		„	19	0,000001	„	überlebt
„	2	„	31	0,0001	„	† 35 Stunden
		„	32	0,00001	„	† 52 „
		„	33	0,000001	„	überlebt
„	3	„	70	0,001	„	† 52 Stunden
		„	71	0,0001	„	† 53 „
		„	72	0,00001	„	überlebt dauernd
„	4	„	90	0,001	„	† 48 Stunden
		„	91	0,0001	„	† 52 „
		„	92	0,00001	„	überlebt
„	5	„	110	0,001	„	† 40 Stunden
		„	111	0,0001	„	† 40 „
		„	112	0,00001	„	überlebt
„	6	„	150	0,001	„	† 60 Stunden
		„	151	0,0001	„	† 62 „
		„	152	0,00001	„	überlebt
„	7	„	170	0,0001	„	† 41 Stunden
		„	171	0,00001	„	überlebt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Erythrocytenvirus	Huhn	200	0,00001	ccm	† 41 Stunden
„	„	201	0,000001	„	† 50 „
„	„	202	0,0000001	„	† 60 „
„	„	203	0,00000001	„	überlebt

Andererseits waren Spättode auch nach der Passage von Serumvirus durch Kaninchen oder von Erythrocytenvirus durch Kaninchen oder Meerschweinchen zu beobachten, nur daß beim Erythrocytenvirus ein längerer Aufenthalt im natürlich immunen Körper erforderlich war, um dem Virus die Fähigkeit der protrahierten Wirkung zu verleihen. Die nachstehenden Protokolle liefern hierfür manche Belege:

Am meisten fällt vielleicht in die Wagschale, daß die erwähnte Modifikation ausblieb, wenn das Virus durch den Organismus anderer infizierbarer, wenn auch im Vergleiche zum Huhne minder empfänglicher Tiere geschickt wurde, z. B. von jungen Gänsen oder Tauben. Hühnerpestvirus aus der jungen Gans oder Taube tötete gesunde Hühner ohne Rücksicht auf die einverleibte Dosis in 2—3 Tagen; bei einer bestimmten Verdünnungsgrenze hörte die Virulenz einfach ohne Uebergang auf (s. w. u.).

6. Versuch.

Ebensoschnell wie aus der Blutbahn verschwindet Serumvirus aus den Organen der Meerschweinchen.

Vom Serumvirus No. 7 war 0,0001 ccm sicher letal:

Huhn	**170 erhält**	**0,0001**	**ccm**	**† 41 Stunden**
„	171 „	0,00001	„	überlebt

Vom gleichen Virus bekamen 3 Meerschweinchen H, J, K je 0,125 ccm intravenös. H wurde nach 5, J nach 22, K nach 48 Stunden entblutet, das Blut defibriniert und Organstückchen verrieben und sowohl Blut als Organbrei zur Inokulation gesunder Hühner benutzt:

Meerschweinchen H, getötet nach 5 Stunden:

Huhn	172 erhält	1,0 ccm Blut	überlebt
„	173 „	1,0 g Leber; dieses Huhn verendet zwar am 3. Tage nach der Impfung, aber nicht an Hühnerpest, da ein mit seinem Hirn geimpftes Huhn 300 dauernd normal bleibt.	
„	174 erhält	die ganze Milz	überlebt
„	175 „	ein Stückchen Hirn	„

Meerschweinchen J, getötet nach 22 Stunden:

Huhn	176 erhält	1,0 ccm Blut	überlebt
„	177 „	1,0 g Leber	„
„	178 „	die ganze Milz, verendet nach 6 Tagen, aber nicht an Hühnerpest, da das Gehirn von 178 für Huhn 301 avirulent ist.	
„	179 erhält	ein Stückchen Hirn	überlebt

Meerschweinchen K, getötet nach 48 Stunden:

Huhn	180 erhält	1,0 g Leber	überlebt
„	181 „	die ganze Milz	„
„	182 „	ein Stückchen Hirn	„

Auch in der Peritonealhöhle des Meerschweinchens schwinden große Virusmengen in 2 Stunden völlig; nach 1 Stunde sind noch Spuren nachweisbar, die dann charakteristischerweise auf das Huhn protrahiert einwirken. Bei peritonealer Injektion ist übrigens zu berücksichtigen, daß die Verdünnung durch das zirkulierende Blut wegfällt.

7. Versuch.

Meerschweinchen L erhält 0,125 ccm des Serumvirus 4 (Virulenzprüfung siehe die Tabelle bei Versuch 5) intraperitoneal mit Zusatz von 5 ccm NaCl. Nach zwei Stunden wird das Meerschweinchen getötet, sein Herzblut und das peritoneale Exsudat auf 2 gesunde Hühner intramuskulär verimpft:

Huhn	93	1 ccm Herzblut	überlebt
„	94	1 „ Exsudat	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Meerschweinchen M erhält 0,25 ccm eines Serumvirus von folgendem Titer:

Huhn 95	0,001	ccm	† 42 Stunden
„ 96	0,0001	„	† 42 „
„ 97	0,00001	„	† 48 „

Nach einer Stunde wird das Meerschweinchen entblutet und

Huhn 98	erhält 1,0 ccm	Carotisblut	überlebt
„ 99	„ 1,0 „	Exsudat	† nach 80 Stunden

Frösche.

Sehr bemerkenswert scheint uns die Tatsache, daß sich der poikilotherme Organismus nicht anders verhält wie der natürlich immune Warmblüter.

8. Versuch.

3 Frösche von 50 g Gewicht erhalten je 0,025 ccm des im 2. und 3. Versuch hinsichtlich seiner Infektiosität bestimmten Hühnerserums (1 : 100 000) in die seitliche Bauchvene. Nach beendeter Injektion wird die Vene sorgfältig ligiert, die Frösche in kaltes Wasser gesetzt und letzteres wiederholt gewechselt. Nach 2, 16 und 42 Stunden wird je ein Frosch aufgespannt, das Herz aseptisch präpariert, alles gewinnbare Blut aus dem linken Ventrikel mit feinen Glaskapillaren aufgesogen und je einem Huhne (101, 102 und 103) intramuskulär eingespritzt. Alle 3 Hühner werden durch Wochen beobachtet und bleiben vollkommen normal.

Ganz anders gestalten sich die Verhältnisse, wenn man statt „Serumvirus“ die gewaschenen Erythrocyten eines pestkranken Huhnes in die Blutbahn oder ins Peritoneum einbringt; in dieser Form hält sich der Erreger der Hühnerpest 24 Stunden, wahrscheinlich auch noch länger, und man begreift nun leicht so manche Differenz in den Versuchen der verschiedenen Experimentatoren.

9. Versuch.

Ein Huhn No. 199 wird am 29. Jan. mit Hühnerpest (Gehirn) intramuskulär infiziert. Nach 24 Stunden wird es im sterbenden Zustand entblutet, das Blut defibriniert und zentrifugiert, die Erythrocyten 4mal gewaschen. Das **Erythrocytensediment** hat folgende Virulenz:

Huhn 200	0,00001	ccm	† 41 Stunden
„ 201	0,000001	„	† 50 „
„ **202**	**0,0000001**	„	† **60** „
„ 203	0,00000001	„	überlebt

a) Kaninchen No. 293 (2500 g) erhält 1,25 ccm der gewaschenen Erythrocyten in die linke Ohrvene. Nach 2 und nach 24 Stunden wird je ein Aderlaß aus der rechten Ohrvene ausgeführt, die Blutproben defibriniert und hiervon abgestufte Mengen normalen Hühnern in die Brustmuskulatur eingespritzt.

Aderlaß nach 2 Stunden:

Huhn 204	1,0	ccm	† 49 Stunden
„ **205**	**0,1**	„	† **55** „
„ 206	0,001	„	überlebt

Aderlaß nach 24 Stunden:

Huhn 207	**1,0**	**ccm**	† **nach 10 Tagen**, protrahierte Wirkung
„ 208	0,1	„	überlebt

b) Zwei Meerschweinchen N und O erhalten je 0,125 ccm intravenös. N wird nach 2 Stunden, O nach 24 Stunden aus dem Herzen entblutet, das Blut defibriniert und in abgestuften Mengen auf seine Infektiosität geprüft:

Meerschweinchen N, getötet nach 2 Stunden:

Huhn 209	erhält	1,0	ccm Herzblut	† 38 Stunden
„ **210**	„	**0,1**	„ „	† **41** „
„ 211	„	0,001	„ „	überlebt

Meerschweinchen O, getötet nach 24 Stunden:

Huhn 212	erhält	1,0	ccm Herzblut	† 72 Stunden
„ **213**	„	**0,1**	„ „	† **96** „

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

c) Drei Frösche erhalten je 0,05 ccm in die seitliche Bauchvene. Blutentnahme aus dem Herzen nach 2 Stunden beim ersten, nach 24 Stunden beim zweiten und nach 4 Tagen beim dritten Frosch.

Vom Herzblut des nach 2 Stunden getöteten Frosches erhält

Huhn 214	0,1 ccm	† 41 Stunden
„ 215	0,01 „	† 60 „
„ **216**	**0,001** „	† **60** „

Vom Herzblut des nach 24 Stunden getöteten Frosches erhält

Huhn 217	**1 ccm**	**† 50 Stunden**

Vom Herzblut des nach 4 Tagen getöteten Frosches erhält

Huhn 218	1 ccm	überlebt

Es ist nicht gerade leicht zu sagen, wie die auffälligen Unterschiede in der Persistenz von Serum- und Erythrocytenvirus im natürlich immunen Tiere gedeutet werden sollen. Der Grund dürfte kaum darin zu suchen sein, daß die Erythrocyten eines infizierten Huhnes mehr Keime enthalten als das zugehörige Serum; sonst müßten größere Serummengen oder virulentere Sera im resistenten Meerschweinchen länger nachweisbar sein als kleine Dosen oder minder infektiöse Serumproben, was nach Versuch 3, 4 und 5 nicht der Fall ist. Eher könnte es sich darum handeln, daß die an den Erythrocyten haftenden Keime der Einwirkung der Abwehrkräfte des natürlich resistenten Tieres infolge rein mechanischer Momente leichter entgehen als die frei im Serum suspendierten Erregerelemente. Wir versetzten nach dem Vorgange von Landsteiner und Russ virulentes Serum mit den Erythrocyten **normaler** Hühner und Kaninchen, ließen die Gemische einige Zeit stehen und injizierten sie dann Meerschweinchen intravenös; bei dieser Technik hielt sich einmal das an Kaninchenerythrocyten gebundene Virus 24 Stunden lang in der Lunge eines Meerschweinchens, was bei reinem Serumvirus nicht zu beobachten war.

10. Versuch.

Virulenz des verwendeten Hühnerserums:

Huhn 150	0,001 ccm	† 60 Stunden
„ **151**	**0,0001** „	† **62** „
„ 152	0,00001 „	überlebt

Meerschweinchen P erhält 0,5 ccm dieses Serums plus 1,2 ccm NaCl nach einstündigem Stehen intravenös. Nach 14 Stunden wird das Tier entblutet, das Blut defibriniert und es bekommt:

Huhn 153	2 ccm	Herzblut von Meerschw. P,	überlebt
„ 154	1 g	Lunge „ „ „	„

Meerschweinchen Q erhält 0,5 ccm Hühnerserum plus 1,2 ccm gewaschener Hühnererythrocyten intravenös. Uebertragung von Blut und Lunge nach 14 h auf 2 Hühner verläuft ebenfalls negativ:

Huhn 155	2 ccm	Herzblut von Meerschw. Q,	überlebt,
„ 156	1 g	Lunge „ „ „	„

Meerschweinchen R, so wie Q behandelt, nur wurden zum virulenten Hühnerserum statt Hühnererythrocyten solche vom Kaninchen zugesetzt.

Huhn 157	2 ccm	Herzblut von Meerschw. R,	überlebt
„ **158**	**1 g**	**Lunge** „ „ „	† **nach 48 h**

Hühnerpest durch Ueberimpfung des Gehirnes von Huhn 158 auf Huhn 159 nachgewiesen.

Weiter konnten wir die Sache nicht verfolgen. Es wäre zunächst zu ermitteln gewesen, ob die Haltbarkeit der Erregerelemente im natürlich immunen Tier durch Adsorption an normale Erythrocyten konstant erhöht wird, ob das Phänomen auch bei intraperitonealer Injektion zu beobachten ist, und ob auch andere Adsorbentien, wie z. B. Kohlepulver, ähnlich wirken wie normale Erythrocyten. Derartige Versuche, die wir nicht mehr ausführen konnten, hätten gewiß bestimmtere Schlüsse

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zugelassen. Bei positiven Resultaten wäre es auch in Frage gestellt worden, ob die Erythrocyten aus Hühnerpestblut überhaupt mehr Keime enthalten als die korrespondierenden Sera oder ob nicht der mechanische Schutz der Infektionskeime durch die Erythrocyten ein leichteres Haften der Infektion bedingt und auf diese Art die erhöhte Infektiosität vortäuscht.

B. Verhalten des Virus in empfänglichen Tieren (Gänsen, Tauben).

Gänse.

Kleine, sowie Kleine und Möllers haben bereits beschrieben, daß intramuskulär infizierte Gänse ein eigentümliches Verhalten zeigen. Speziell bei jungen Gänsen tritt das Virus von der Infektionsstelle ins Blut über, es kommt also zu einer Septikämie; die letztere ist jedoch nur vorübergehend, das Blut verliert seine Virulenz, dagegen lokalisiert sich der Erreger im Zentralnervensystem. Später kann das Virus wieder ins Blut zurückkehren. Bei fortgesetzter Gänsepassage wird die Zeit, während welcher das Blut virusfrei ist, kürzer, kann sogar auf einen Tag oder vielleicht auf Stunden reduziert werden, so daß sich der Charakter der Infektion dem bei Hühnern beobachteten annähert; freilich wird das Blut der jungen Gans, wie aus Kleines Angaben erhellt, nie so keimreich, wie das des Huhnes, und sind stets große Mengen erforderlich, um eine wirksame Uebertragung auf ein Huhn zu ermöglichen. Ferner berichten Kleine und Möllers, daß es nur selten gelingt, alte Gänse mit Hühnerpest von der Subcutis aus wirksam zu infizieren; erliegen solche Gänse, so kann ihr Zentralnervensystem für Hühner avirulent sein.

Wir haben ebenfalls an Gänsen, jüngeren und älteren, gearbeitet, die Infektion jedoch stets durch intravenöse Injektion bestimmter Mengen **„Serumvirus“** in die **Flügelvene** vorgenommen. Sodann wurden in verschiedenen Zeitintervallen Blutproben aus der Flügelvene der anderen Körperseite mit steriler Spritze direkt aspiriert, defibriniert und ihre Virulenz im Reihenversuch bestimmt.

11. Versuch.

Einer jungen Gans von 2200 g Körpergewicht werden **2,2 ccm Hühnerpestserum** intravenös eingespritzt (10. Juni 1914, 12 h a. m.).

Die Virulenzprüfung des Serums ergab:

Huhn 170	**0,0001 ccm**	**† 41 Stunden**
„ 171	0,00001 „	überlebt

1. Aderlaß nach 24 Stunden (11. Juni, 12 h a. m.).

Huhn 183	**1,0 ccm**	**† 60 Stunden**
„ 184	0,1 „	überlebt
„ 185	0,01 „	„

2. Aderlaß nach 3 × 24 Stunden (13. Juni, 12 h a. m.).

Huhn 186	1,0 ccm	† 48 Stunden
„ **187**	**0,1** „	**† 60** „

3. Aderlaß nach 5 × 24 Stunden (15. Juni, 10 h a. m.).

Huhn 188	1,0 ccm	überlebt
„ 189	0,1 „	„
„ 190	0,01 „	„

Die Gans ist am 15. Juni schwer krank, zeigt Labyrinthschwindel, liegt am Boden; am 16. Juni wird das Tier tot aufgefunden. Es wurde das Blut, die Galle, die Leber und das Gehirn auf Infektiosität geprüft mit folgendem Ergebnis:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Huhn 191	geimpft mit	1 ccm	Blut der Gans		überlebt
„ 192	„ „	1 „	Galle „	„	„
„ 193	„ „		Leber „	„	† 48 Stunden
„ 194	„ „		Gehirn „	„	† 53 „

(Eine neuerliche Ueberimpfung des Gehirnes von Huhn 193 auf 195 ergab Hühnerpest, Exitus in 32 Stunden.)

Die Gans war mit einer relativ großen Virusmenge, mindestens 22000 letalen Dosen für das Huhn inokuliert worden; am 1. Tage enthielt ihr Blut nur wenig Virus, am 3. ungleich mehr, am 5. sowie nach dem Exitus war das Blut in der geprüften Dosis avirulent. Also vorübergehende Vermehrung in der Zirkulation, dann endgültiges Verschwinden; Zentralnervensystem und Leber nach dem Tode der Gans virulent, aber nur in geringem Grade (vgl. Huhn 194 mit 195).

12. Versuch.

Junge Gans (2000 g) erhält am 20. Juni 4^{h} p. m. **0,1 ccm Serum** eines pestkranken Huhnes intravenös.

Virulenz des Serums:

Huhn 110	0,001 ccm	† 40 Stunden
„ **111**	**0,0001** „	**† 40** „
„ 112	0,00001 „	überlebt

1. Aderlaß am 21. Juni 10^{h} a. m. (nach 16 Stunden).

Huhn 113	1,0 ccm Gansblut	überlebt
„ 114	0,1 „ „	„

2. Aderlaß am 23. Juni, 4^{h} p. m. (3 × 24 Stunden).

Huhn 115	1,0 ccm Gansblut	† 66 Stunden
„ 116	0,1 „ „	† 48 „
„ **117**	**0,01** „ „	**† 73** „
„ 118	0,001 „ „	überlebt

3. Aderlaß am 25. Juni 4^{h} p. m. (5 × 24 Stunden).

Huhn 119	1,0 ccm Gansblut	überlebt
„ 120	0,1 „ „	„
„ 121	0,01 „ „	„
„ 122	0,001 „ „	„

Die Gans ist am 27. Juni abends und am 28. schwer krank, am 29. scheinbar wieder gesund; am 4. Juli früh, 14 Tage nach der Infektion, wird sie tot aufgefunden. Blut, Galle und verschiedene Organe werden auf Infektiosität geprüft:

Huhn 123	wird geimpft mit 1 ccm Blut der Gans, † nach 10 Tagen, ist aber nicht an Hühnerpest eingegangen, da sein Gehirn für Huhn 130 nicht virulent.	
„ 124	geimpft mit 1 ccm Galle	überlebt
„ 125	„ „ Knochenmark	„
„ 126	„ „ Leber	„
„ 127	„ „ Gehirn	† nach 7 Tagen, Hirn von Huhn 127 jedoch für Huhn 131 avirulent.
„ 128	geimpft mit Milz	† nach 3½ Tagen, Hirn von Huhn 128 für Huhn 132 ebenfalls avirulent.

Diese Gans war nur mit etwa 1000 letalen Dosen für das Huhn infiziert worden; dementsprechend erwies sich das Blut nach 24 Stunden avirulent, nach 3 Tagen relativ hochinfektiös, nach 5 Tagen wieder als nicht virulent, ebenso nach dem erst spät eingetretenen Exitus des Tieres. Bemerkenswert erscheint, daß das Virus in den Organen und Körperflüssigkeiten der verendeten Gans überhaupt nicht mehr nachweisbar war, daß also die Todesursache nicht auf eine noch bestehende Infektion, sondern auf die Folgen des bereits abgelaufenen Prozesses bezogen werden mußte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

13. Versuch.

Etwas ältere Gans (3000 g) inokuliert mit **0,1 ccm Hühnerpestserum** intravenös am 7. Juli 5^{h} p. m. Virulenz des Serums aus Versuch 10 zu entnehmen. Infektionsdosis = 1000 letalen Dosen für das Huhn.

1. Aderlaß 16^{h} post infectionem, am 8. Juli.

Huhn 159	**1 ccm Gansblut**	**† nach 100 Stunden**

2. Aderlaß am 10. Juli (nach 3 × 24 Stunden).

Huhn 160	1,0 ccm Gansblut	† nach 54 Stunden
„ **161**	**0,1** „ „	† „ **6 Tagen**

3. Aderlaß am 13. Juli (nach 6 × 24 Stunden).

Huhn 162	1,0 ccm Gansblut	überlebt
„ 163	0,1 „ „	„

Die Gans zeigt keine Krankheitserscheinungen, trotz der allerdings geringen Septikämie, und bleibt dauernd normal.

14. Versuch.

Alte Gans (5000 g) erhält **5 ccm Hühnerpestserum** in die Flügelvene. Das Serum war für Huhn 164 noch in der Menge von 0,00001 ccm in 33 Stunden tödlich: die Infektionsdosis entsprach also 500000 letalen Dosen für das Huhn.

1. Aderlaß nach einer Stunde (24. März).

Huhn 300	1,0 ccm Gansblut	† 50 Stunden
„ **301**	**0,1** „ „	† **46** „
„ 302	0,01 „ „	überlebt

2. Aderlaß nach 2 Stunden (24. März).

Huhn 303	1,0 ccm	† 45 Stunden
„ **304**	**0,1** „	† **45** „

3. Aderlaß nach 24 Stunden (25. März).

Huhn 305	1,0 ccm	† 45 Stunden
„ **306**	**0,1** „	† **45** „
„ 307	0,01 „	überlebt

4. Aderlaß nach 3 × 24 Stunden (27. März).

Huhn 308	1,0 ccm	† 48 Stunden
„ **309**	**0,1** „	† **52** „

5. Aderlaß nach 6 × 24 Stunden (30. März).

Huhn 310	**1,0 ccm**	**† 60 Stunden**
„ 311	0,1 „	überlebt

6. Aderlaß nach 9 × 24 Stunden (2. April).

Huhn 312	2,0 ccm	überlebt

Durch die enormen einverleibten Virusmengen und die ungenaue Auswertung des 4. Aderlasses kommt es nicht zum Ausdruck, ob sich die Erreger im Blute vermehrt haben oder nicht. Es fällt nur auf, daß die Keime auffallend lange nachweisbar waren, viel länger als bei den natürlich immunen Tieren, aber auch bedeutend länger als bei jungen Gänsen. Man erhält den Eindruck, als ob die injizierten Erreger, ohne sich zu vermehren, kreisen würden, und erst zum Termin der Antikörperbildung verschwinden, während sich im Körper der jungen Gans ein effektiver Infektionsprozeß abspielt, in welchem die transitorische Septikämie eine einzelne Phase darstellt.

Ganz unregelmäßig fielen die Versuche an **Tauben** aus, obzwar die Tiere gleiches Gewicht und Alter hatten und die verwendeten Vira (Sera pestkranker Hühner) auch annähernd gleiche Infektiosität aufwiesen. Es schien nur, als ob nach Injektion großer Virusmengen die Erreger länger nachweisbar waren, als nach kleineren Dosen; doch war auch in dieser Hinsicht die Gesetzmäßigkeit nicht ausnahmslos.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

15. Versuch.

3 Tauben, T_1, T_2 und T_3, erhalten je 1 ccm eines Serumvirus in eine Flügelvene.

T_1 wird nach einer Stunde durch Abschneiden des Kopfes entblutet, das Blut defibriniert.

Huhn 313	geimpft mit 1,0 ccm Taubenblut	† 22 Stunden
„ 314	„ „ 0,1 „ „	† 45 „
„ 315	**„ „ 0,01 „ „**	**† 50 „**

T_2 entblutet nach 24 Stunden:

Huhn 316	geimpft mit 1,0 ccm Taubenblut	† 53 Stunden
„ 317	**„ „ 0,1 „ „**	**† 53 „**

T_3 entblutet nach 3 Tagen:

Huhn 318	geimpft mit 1,0 ccm Taubenblut	† 48 Stunden
„ 319	**„ „ 0,1 „ „**	**† 60 „**

16. Versuch.

3 Tauben, T_4, T_5 und T_6, intravenös injiziert mit 0,3 ccm Virus (Serum).

Virulenz des Serums:

Huhn 320	0,0001 ccm	† 48 Stunden
„ 321	0,00001 „	† 60 „

T_4 getötet nach einer Stunde:

Huhn 322	**geimpft mit 1,0 ccm Blut**	**† 72 Stunden**
„ 323	„ „ 0,1 „ „	überlebt
„ 324	„ „ 0,01 „ „	„
„ 325	„ „ 0,1 g Gehirn	„
„ 326	**„ „ 0,1 g Knochenmark**	**† 48 Stunden**

T_5 getötet nach 24 Stunden:

Huhn 327	geimpft mit 1,0 ccm Blut	† 40 Stunden
„ 328	**„ „ 0,1 „ „**	**† 40 „**
„ 329	**„ „ 0,1 g Gehirn**	**† 48 „**

T_6 getötet nach 3 × 24 Stunden:

Huhn 330	geimpft mit 0,1 ccm Blut	überlebt
„ 331	„ „ 0,01 „ „	„
„ 332	„ „ 1,0 „ „	„
„ 333	„ „ 0,1 g Gehirn	„
„ 334	„ „ 0,1 g Knochenmark	„

17. Versuch.

2 Tauben, T_7 und T_8, geimpft mit 0,3 ccm Serumvirus intravenös.

Virulenz des Serums:

Huhn 335	0,0001 ccm	† 41 Stunden
„ 336	0,00001 „	überlebt

T_7 getötet nach 24 Stunden:

Huhn 337	geimpft mit 1,0 ccm Blut	überlebt
„ 338	„ „ 0,1 „ „	„
„ 339	„ „ 0,01 „ „	„
„ 340	„ „ 0,001 „ „	„

T_8 entblutet nach 3 × 24 Stunden:

Huhn 341	geimpft mit 1,0 ccm Blut	überlebt
„ 342	„ „ 0,1 „ „	„
„ 343	„ „ 0,2 g Gehirn	„

Bei einer Taube hielt sich das Virus 3 Tage hindurch und zeigte nur eine geringe Abschwächung, bei der anderen war es nach 24 h nicht mehr vorhanden; und im gleichen Versuch hatte eine Taube nach 24 h mehr Virus in der Blutbahn als eine zweite nach 60 Minuten. Auch war das Gehirn stets nur dann infektiös, wenn das Blut die gleiche Eigenschaft zeigte; Virulenz des Gehirnes bei avirulentem Blut kam nicht vor, so daß es wahrscheinlich wird, daß die Infektionsversuche mit Gehirn nur infolge seines Blutgehaltes positiv ausfielen. Nie ließen sich an den Tauben Krankheitssymptome wahrnehmen, keine ging spontan ein, obzwar 2 (T_9 und T_{10}, geimpft mit 0,3 ccm Serum intravenös) durch Wochen beobachtet wurden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

II.
Filtrierbarkeit der Erregerelemente.

Um abgestufte Filter zu erhalten, gingen wir nach Moldovan so vor, daß wir Glaseprouvetten in die übliche Kollodiumlösung 2—7mal eintauchten und nach jedem Eintauchen mehrere Minuten bis zum Festwerden des Kollodiums verstreichen ließen. Die resultierenden Säckchen bestanden demnach aus einer verschiedenen Anzahl von annähernd gleich starken Häutchen und es war zu erwarten, daß das Hühnerpestvirus durch die Wand der dünneren Säckchen durchtreten würde, durch die der dickeren nicht. In jedes der Säckchen füllten wir 2 ccm NaCl-Lösung und 10 Tropfen defibrinierten Blutes von einem an Pest verendeten Huhn No. 344. Sodann wurden die Säckchen in größere Eprouvetten mit NaCl-Lösung eingehängt und 8 Stunden der Dialyse überlassen. Nach Ablauf dieser Zeit wurde unter allen Kautelen 1 ccm der Außenflüssigkeit abpipettiert und gesunden Hühnern intramuskulär eingespritzt. Alle Säckchen waren auf ihre Dichtigkeit vorher geprüft, und außerdem wurde beachtet, ob das Durchsickern von Erythrocyten während der Dialyse auf später entstandene feinere Risse hindeutete.

18. Versuch.

a)	Huhn	345	geimpft	mit	Außenflüssigkeit	von einem 2-fachen Säckchen			† 48 Stunden
b)	„	**346**	„	„	„	„ **anderem 2-fachen Säckchen**			**† 48 Stunden**
c)	„	**347**	„	„	„	„ **einem 3-fachen Säckchen**			**† 72 Stunden**
d)	„	348	„	„	„	„ anderem 3-fachen	Säckchen		überlebt
e)	„	349	„	„	„	„ einem 4-fachen	„		„
f)	„	350	„	„	„	„ „ 5-fachen	„		„
g)	„	351	„	„	„	„ „ 6-fachen	„		„
h)	„	352	„	„	„	„ „ 7-fachen	„		„

Zweifache Kollodiumsäckchen lassen also das Virus durch, 3-fache stehen an der Grenze der Permeabilität, 4—7-fache halten die Keime zurück. Das kann auch noch auf einem anderen Wege gezeigt werden. Bringt man sorgfältig verschlossene, mit Virus gefüllte Kollodiumsäckchen in die Bauchhöhle von Hühnern, so bleiben letztere am Leben, wenn das Säckchen 4—7-fach war, gehen dagegen bei geringerer Wandstärke an Hühnerpest zugrunde.

Unter den zahlreichen Versuchen dieser Art ist besonders einer instruktiv, weil bei demselben die Säckchen des obigen Dialyseexperimentes benutzt wurden:

Huhn 353 in der Aethernarkose laparotomiert; in der Bauchhöhle wird das sub b) erwähnte zweifache Säckchen, in der bekannten Technik an ein zugeschmolzenes Glasrohr befestigt, deponiert, sodann das Bauchfell, die Muskulatur und die Haut durch Knopfnähte verschlossen. Das Huhn verendet nach 36^{h} an Hühnerpest.

Huhn 354 in gleicher Weise operiert, in die Peritonealhöhle das 5-fache, sub f) erwähnte Säckchen versenkt. Bleibt dauernd gesund.

Auch vierfache Säckchen, die mit enormen Virusmengen gefüllt wurden, erweisen sich im Peritoneum des Huhnes als impermeabel, natürlich unter der Voraussetzung, daß die zahlreichen Fehlerquellen einer solchen Versuchsanordnung vermieden werden; ohne weiter darauf eingehen zu müssen, leuchtet es ja ein, daß bei einem Virus, das noch in einer Verdünnung von 1000 Millionen infiziert, ganz besonders darauf geachtet werden muß, daß die Außenseite der Säckchen, die Instrumente,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Hände des Operateurs von jeder Berührung mit infiziertem Materiale frei bleiben.

Bei Huhn 355 wird per laparotomiam ein vierfaches, mit konzentriertem Hühnerpestblut gefülltes Säckchen eingebracht. Bleibt dauernd gesund.

Huhn 356 wird ein sechsfaches Säckchen mit Virus implantiert. Bleibt gesund.

Huhn 357 erhält ein zweifaches Säckchen mit demselben Inhalt wie Huhn 356. Verendet an Hühnerpest nach 40 Stunden.

Huhn 358 erhält ein dreifaches Säckchen mit gleichem Inhalt. Verendet an Hühnerpest nach 3 Tagen (72 Stunden).

Das in Kollodiumsäckchen eingeschlossene Virus stirbt innerhalb von 6—8 Tagen ab.

19. Versuch.

Bei Huhn 359 wird ein vierfaches Säckchen mit reichlichem Virus intraperitoneal eingepflanzt. Das Huhn bleibt 5 Tage vollkommen gesund, wird dann durch Abschneiden des Kopfes getötet, das Säckchen herausgenommen und mit seinem Inhalt Huhn 360 intramuskulär geimpft. Huhn 360 geht in 48 Stunden an Hühnerpest ein.

Huhn 361 operiert, fünffaches Säckchen, mit reichlichem Virus beschickt, i. p. implantiert. Nach 6 Tagen getötet, Säckchen entfernt, Inhalt auf Huhn 362 übertragen (intramuskulär): Huhn 362 bleibt dauernd gesund.

Huhn 363. Vierfaches Säckchen, mit Hühnerpestserum (1 ccm + 1 ccm NaCl) gefüllt, intraperitoneal eingesetzt. Nach 8 Tagen getötet. Säckcheninhalt dem Huhn 364 in die Brustmuskeln eingespritzt; bleibt dauernd gesund.

Das Virus kann auch dann nicht lebend erhalten oder zur Vermehrung angeregt werden, wenn man das erste Säckchen nur kurze Zeit im Huhn beläßt und seinen Inhalt in einem neuen Säckchen in die Bauchhöhle eines zweiten Huhnes bringt (Säckchenpassage), also gewissermaßen den Nährboden erneuert.

20. Versuch.

Am 27. Juni wird ein zweifaches Säckchen, enthaltend 10 Tropfen eines virulenten Serums (Virulenz 1:10000) + 5 Tropfen defibrinierten normalen Hühnerblutes, dem Huhn No. 370 intraperitoneal eingesetzt. Das Huhn verendet am 29. Juni früh an Hühnerpest.

Der Inhalt des der Bauchhöhle entnommenen Säckchens wird in ein neues vierfaches Säckchen übertragen und letzteres dem Huhn No. 371 intraperitoneal eingesetzt. Dieses Huhn bleibt gesund und wird am 3. Juli, am 4. Tage nach der Operation getötet: Der Inhalt des Säckchens war nunmehr avirulent; Huhn 372, damit intramuskulär geimpft, zeigte durch 2 Wochen keine krankhaften Symptome.

Das Virus hatte also im ersten Säckchen 2, im zweiten 4 Tage, im ganzen also 6 Tage in der Kollodiumhaut verweilt und war in dieser Zeit, genau entsprechend dem Versuch No. 19, Huhn 361, abgestorben. Darin liegt auch ein Beweis, daß das Virus aus dem zweifachen Säckchen bei Huhn 370 wirklich durch die Wandporen durchtrat und daß nicht etwa grobe Undichtigkeiten den Austritt des Virus und damit den Tod des Huhnes veranlaßten; dann hätte ja das erste Säckchen beim Exitus des Huhnes frisches Virus, nicht 2 Tage altes enthalten, und der Inhalt des zweiten Säckchens wäre gemäß Versuch 19 noch infektiös gewesen.

21. Versuch.

Am 22. Juni erhält Huhn 380 ein dreifaches Säckchen intraperitoneal, beschickt mit 20 gtt. hochvirulenten Hühnerpestserums. Am 24. Juni früh wird das Huhn tot aufgefunden. Inhalt des Säckchens klar, kulturell steril, wird in ein neues dreifaches Säckchen gegeben und dieses in die Bauchhöhle des Huhnes 381 versenkt.

Huhn 381 bleibt gesund und wird am 27. Juni, 3 Tage post operationem getötet. Auch diesmal ist der Inhalt des Säckchens klar, kulturell steril, aber hochvirulent: Huhn 382, damit intramuskulär gespritzt am 27. Juni 4^{h} p. m., wird schon am 29. Juni früh an Hühnerpest verendet, aufgefunden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Diesmal hatte das Virus nur $4^1/_2$ Tage im Säckchen zugebracht, war also konform Versuch 19, Huhn 359, noch erhalten geblieben.

Eine Kultur des Virus im Kollodiumsäckchen, welches in die Bauchhöhle von Hühnern, also einer höchstempfänglichen Species, versenkt wird, gelingt also nicht; im Zusammenhalte mit den wohl als gelungen zu bezeichnenden Züchtungsversuchen von Marchoux sowie Landsteiner scheint daraus hervorzugehen, daß die Hühnerpesterreger intakte Hühner- oder Gänseerythrocyten zu ihrer Vermehrung benötigen.

III.
Chemotherapeutische Experimente.

Unsere Bestrebungen, eine Therapia sterilisans für die Hühnerpest zu finden, hatten ein fast völlig negatives Ergebnis, so daß von ihrer ausführlichen Publikation abgesehen werden darf. Es sei nur kurz bemerkt, daß wir folgende Mittel und Kombinationen durchprüften:

1) Optochinum hydrochloricum (intramuskulär);
2) Optochinum basicum in öliger Emulsion (intramuskulär);
3) Salvarsan in Lösung intramuskulär;
4) salizylsaures Natron;
5) Salizyl + Salvarsan in öliger Suspension;
6) Salizyl + Salvarsan + Optochinum basicum;
7) Hexamethylentetramin in wässeriger Lösung intravenös.

In allen Fällen ermittelten wir die Toleranzgrenze für das gesunde Huhn und den gewählten Applikationsmodus und gingen dann bei den therapeutischen Versuchen von relativ kleinen Dosen ansteigend bis an toxische Gaben heran. Die Infektion der Hühner erfolgte stets intramuskulär mit Serumvirus und zwar mit 1 ccm einer 10000-fachen Verdünnung; die Chemikalien wurden teils präinfektionell, teils postinfektionell, einmal oder wiederholt administriert; manchmal starben die Kontrollen etwas früher wie die behandelten Hühner, manchmal wieder später, ohne daß die Differenzen nach der einen oder anderen Richtung erheblich gewesen wären. Prophylaktische oder kurative Effekte waren nie zu konstatieren. Nur Urotropin schien eine geringe Verzögerung des Infektionsverlaufes zu bewirken.

22. Versuch.

Kontrollen: Huhn 384 erhält 0,0001 ccm Virus am 24. Juni 4^h p. m., am 26. Juni früh tot aufgefunden.

Huhn 385 verhält sich genau wie 384.

Versuch: Huhn 386 erhält 0,0001 ccm Virus am 24. Juni 4^h p. m. intramuskulär, unmittelbar darauf 0,2 g Urotropin ebenfalls intramuskulär, und um 6^h nochmals 0,2 g Urotropin intramuskulär. Am 26. früh leicht krank, am 26. Juni abends tot.

Huhn 387 wie 386, nur mit 0,2 g Urotropin (im ganzen) behandelt, unmittelbar post infectionem; 26. früh krank, verendet um 8^h vormittags.

Huhn 388 wie 386, 0,4 g Urotropin intramuskulär; am 26. früh krank, verendet um 9^h abends.

23. Versuch.

Kontrolle: Huhn 389 erhält am 27. Juni 0,0001 ccm Virus intramuskulär; am 29. früh tot aufgefunden.

Huhn 390 erhält zuerst 0,24 g Hexamin intravenös, wird 5 Minuten später wie 389 infiziert; am 28. um 2 und 6^h p. m. je 0,24 g Urotropin subkutan; am 29. ist das Huhn krank, bekommt nochmals 0,24 g Urotropin intravenös um 8^h a. m., verendet aber um 2^h nachmittags.

Huhn 391, ebenso wie 390 infiziert und behandelt, ist am 29. kaum krank, am 30. schwer krank und verendet am 30. 12^h mittags.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Viel hat also auch das Urotropin nicht genützt; aber die Hühner vertragen ungemein viel von der Substanz, und man hätte zweifellos die Behandlung weit intensiver gestalten können, als das tatsächlich geschah. Speziell im Beginne der Infektion hätte man den Hebel kräftiger ansetzen sollen; auch wäre die Wirkung bei intravenösem Infektionsmodus und mit kleineren Infektionsdosen zu studieren gewesen. Praktischen Nutzen für die Bekämpfung der Hühnerseuche haben ja solche Untersuchungen nicht; aber die Aussicht, daß sich ein chemotherapeutisches Spezifikum für Hühnerpest finden läßt, ist doch nicht nur theoretisch verlockend, sondern auch deshalb, weil damit ein Weg zur kurativen Beeinflussung anderer, menschenpathogener filtrierbarer Vira gegeben sein könnte.

Infektiosität des Hühnerpestvirus.

24. Versuch.

Zwei eben vom Händler eingelieferte Hühner werden in Käfige gesetzt, die knapp vorher im strömenden Wasserdampf desinfiziert wurden. Die Käfige stehen in einem Raume, der früher nie zu Hühnerpestversuchen benützt worden war.

Als Futter erhalten die Hühner Hafer, der ausgiebig mit frischem, hochvirulentem, defibriniertem Hühnerpestblut benetzt wird. In den Tränknapf wird gleichfalls Hühnerpestblut, mit Wasser vermengt, gegossen. Die beiden Hühner nehmen sofort begierig das Futter auf, trinken das infizierte Wasser und bleiben dauernd gesund. Beobachtungszeit 25 Tage (vom 11. Juli bis zum 3. Aug.).

25. Versuch.

Ein an Pest verendetes Huhn wird für 4 Stunden uneröffnet in Benzin eingelegt (zur Abtötung des Ungeziefers), sodann an der Luft getrocknet, die Leibeshöhlen eröffnet und der Kadaver einem gesunden Huhn in den Käfig gelegt (18. Juli). Am 19. hat das Huhn den Kadaver angefressen, speziell die Leber; es wird beobachtet, wie das Huhn auf die infizierten Organe mit dem Schnabel loshackt. Der Kadaver wird aus dem Käfig entfernt. Das Huhn bleibt bis zum 7. Aug. vollkommen gesund.

Diese 3, unter allen Vorsichtsmaßregeln angestellten Versuche stehen in direktem Gegensatz zu den herrschenden Auffassungen von der natürlichen Verbreitung der Hühnerpest. Nach der Ansicht der meisten Autoren ist diese Epizootie durch ihre außerordentliche Ansteckungsfähigkeit ausgezeichnet; die natürliche Infektion soll durch Aufnahme infektiösen Materials mit der Nahrung erfolgen. Gestützt wurde diese Theorie durch die Angaben von Centanni, daß ein wenig Blut von einem pestkranken Huhn, auf das Futter gespritzt, gesunde Hühner in 2—3 Tagen tötet.

Das Virus, mit dem wir arbeiteten (von Prof. Landsteiner in Form von virushaltigem Hühnerhirn in Glyzerin überlassen), war jedenfalls nicht imstande, bei der Aufnahme per os eine Infektion hervorzurufen. Es wirkte nur bei direkter Applikation ins Gewebe.

Der Widerspruch ist gar nicht so merkwürdig, als man glauben möchte. Man hat auch das Gelbfieber, das Phlebotomus-Fieber und andere Seuchen für kontagiös gehalten, bevor exakte Beobachtungen das Gegenteil bewiesen; beim Fleckfieber, das gegenwärtig am meisten in Diskussion steht, sind Kontagionisten und Antikontagionisten noch nicht ins Reine gekommen, und es hat sich sogar eine dritte Partei gebildet, welche **neben** der Uebertragung durch die Laus auch die Ansteckung durch Kontakt, Zerreiben virushaltiger Läuse, Inhalation von Tröpfchen, die der Kranke versprayt hat etc., für möglich hält. Nicht anders liegen die Dinge bei der Dengue.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wir müssen uns auf Grund unserer Erfahrungen auf den Standpunkt stellen, daß die Hühnerpest nicht kontagiös ist — falls nicht mit dem Namen Hühnerpest verschiedene Hühnerseuchen bzw. Vira bezeichnet werden. Uebrigens stehen wir mit der Behauptung nicht vereinzelt da; auch Marchoux machte dieselbe Angabe und meint, daß die Uebertragung durch einen besonderen Zwischenwirt erfolge. Letztere Annahme erfließt eigentlich von selbst aus der Nichtkontagiosität; nur gelang es Marchoux nicht, in der Hühnerzecke den Zwischenwirt aufzufinden, und Versuche von Centanni mit der Hühnermilbe (Dermanyssus avium) fielen negativ aus. Centanni zerrieb sogar Milben, die auf pestkranken Hühnern schmarotzt hatten, und injizierte sie gesunden Hühnern — ohne Erfolg.

Als wir uns von der fehlenden Ansteckungsfähigkeit des Virus durch bloßen Kontakt oder per os überzeugt hatten, gingen wir natürlich auch dazu über, eine Uebertragung durch hämatophage Ektozoen im Experimente nachzuweisen; der einzige Versuch, zu dem uns die Ereignisse Zeit ließen, hatte aber kein positives Ergebnis.

25. Versuch.

Huhn 400 war am 16. Juli mit Hühnerpestserum (1 ccm einer Verdünnung von 1 : 1000) intramuskulär geimpft worden. Am 17. war das Tier gegen Abend leicht krank, am 18. früh wurde es tot aufgefunden.

Es war mit Milben, deren Art wir nicht mehr näher bestimmen konnten, bedeckt. Wir sammelten kleinere und größere Exemplare, und zwar, um Verletzungen der Milben zu vermeiden, so, daß die Federn, an denen sich die Milben festhielten, ausgezupft, die Milben selbst aber nicht berührt wurden. Brachte man eine solche Feder in Kontakt mit dem Federkleid eines normalen Huhnes, so kroch die bis dahin scheinbar träge Milbe mit großer Schnelligkeit und Sicherheit auf das Gefieder des lebenden Huhnes, um sofort in der Tiefe des Federpelzes zu verschwinden. Auf diese Art wurden etwa

8—10 kleinere Milben auf Huhn 401 und
8—10 größere „ „ „ 402

gesetzt und zwar am 18. Juli vormittags. Die Hühner saßen in sterilisierten Käfigen und wurden bis zum 3. Aug., also 16 Tage beobachtet; bis zu diesem Termin blieben sie gesund.

Es bedarf keiner Erörterung, daß dieses negative Resultat nicht berechtigt, eine Uebertragung durch blutsaugende Schmarotzer auszuschließen. Vielleicht sind es gar nicht die verwendeten Milben, die in Betracht kommen, vielleicht findet die Uebertragung erst durch die zweite Generation, oder nach längerer Reifung im Hautschmarotzer statt etc.; der Möglichkeiten gibt es viele, und ihre systematische Analyse würde ein sorgfältiges, längeres Experimentieren erfordern.

IV.

Zerstörung des Virus durch Organzellen und Körperflüssigkeiten natürlich immuner Tiere.

Wir haben uns auch mit der Frage beschäftigt, durch welchen Mechanismus die Erregerelemente im natürlich immunen Tiere zugrunde gehen. Eine Serumwirkung im Sinne einer rein humoralen Virulizidie liegt nicht vor; das haben Kraus und Doerr gezeigt. Bei den vitro-Experimenten waren daher andere Kombinationen zu versuchen. Da das Hühnerpestvirus aus dem Körper des Meerschweinchens innerhalb einer Stunde fast regelmäßig eliminiert wird, so haben wir diese Zeit als Basis angenommen und ausschließlich Meerschweinchenzellen auf ihre virustötende Kraft geprüft.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

26. Versuch.

Als Virus diente reines, erythrocytenfreies, nicht hämolytisches Hühnerpestserum, verdünnt mit NaCl.

Huhn	404	0,001 ccm	Virus	am 9. Febr.			† 40 Stunden
„	405	0,001 „	„	+ 0,5	Meerschw.-Serum		† 45 „
„	406	0,001 „	„	+ 0,5	„	-Leukocyten	† 42 „
„	**407**	**0,001** „	**„**	**+ 0,5**	**„**	**-Erythrocyten**	**überlebt**
„	**408**	**0,001** „	**„**	**+ 0,5**	**„**	**-Serum + Meerschw.-Leukocyten**	**überlebt**
„	**409**	**0,001** „	**„**	**+ 0,5**	**„**	**-Milz**	**„**

Die Kontaktdauer des Virus mit den Zellen betrug 90 Minuten bei Zimmertemperatur. Leukocyten und Erythrocyten waren 2mal gewaschen, die Milz wurde mit dem Virus verrieben.

27. Versuch.

Huhn	410	0,001 ccm	Virus	am 14. Februar			† 17. früh
„	411	0,001 „	„	+ 0,5 ccm	Meerschw.-Serum		† 16. mittags
„	412	0,001 „	„	+ 0,5 „	„	-Leukocyten	† 16. früh
„	413	0,001 „	„	+ 0,25 g	„	-Gehirn	† 16. mittags
„	414	0,001 „	„	+ 0,25 g	„	-Niere	† 16. abends
„	415	0,001 „	„	+ 0,25 g	„	-Herz	† 18. früh
„	416	0,001 „	„	+ 0,25 g	„	-Milz	† 17. 9^{h} p. m.
„	**417**	**0,001** „	**„**	**+ 0,25 g**	**„**	**-Nebenniere**	**† nach 9 Tagen**
„	**418**	**0,001** „	**„**	**+ 0,5 ccm**	**„**	**-Serum + 0,5 Meerschw.-Leukocyten**	**überlebt**
„	**419**	**0,001** „	**„**	**+ 0,5**	**„**	**-Erythrocyten**	**„**

28. Versuch.

Huhn	420	0,002 ccm	Virus	am 19. Februar		† 43 Stunden
„	421	0,002 „	„	+	Meerschw.-Nebenniere	† 53 „
„	422	0,01 „	„	+	„	† 43 „

Auch hier kann ein entscheidendes Urteil in Anbetracht der zu geringen Zahl der Einzelerfahrungen nicht gefällt werden. Milz und Nebenniere erwiesen sich in einem Versuch virulizid, im anderen nicht, was immerhin verständlich erscheint, wenn man die Schwierigkeiten einer exakten Verreibung von Organ und Virusverdünnung berücksichtigt. Ein winziges Tröpfchen Viruslösung, welches an die Wand des Gefäßes gelangt und mit den Organzellen nicht in Berührung kommt, kann einen negativen in einen positiven Erfolg umwandeln. Uebereinstimmend wirkten in zwei Versuchen Erythrocyten und Kombinationen von Meerschweinchenserum und Meerschweinchenleukocyten; da den Erythrocyten stets etwas Serum anhaftet und die Erythrocytensedimente auch Leukocyten enthalten, so kann ein gemeinschaftlicher Faktor bei beiden Versuchsanordnungen mitspielen. Weiter enthält auch die Milz Serum, Leuko- und Erythrocyten genug, um auch ohne die sonstigen Gewebselemente virulizid wirken zu können.

V.

Resistenz des Virus gegen einige Agentien.

Durch halbstündigen Kontakt von virulenten Hühnererythrocyten mit destilliertem Wasser oder durch Hämolyse mittels eines spezifischen Ambozeptors und Komplements wird die Infektiosität nicht alteriert.

Fällungen virulenter, 500-fach verdünnter Hühnersera mit kolloidaler Kieselsäure reduzieren die Infektiosität nicht.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Schlußfolgerungen.

1) Hühnerpestvirus in Form von erythrocytenfreiem Serum kranker Hühner verschwindet nach intravenöser Zufuhr aus der Blutbahn und den Organen natürlich immuner Tiere (Kaninchen, Meerschweinchen, Frösche) innerhalb 1—2 Stunden vollkommen.

2) Hühnerpestvirus in Form von virulenten, gewaschenen Hühnererythrocyten hält sich in den gleichen Tierspecies länger als 24 Stunden.

3) Der Mechanismus der Virusvernichtung im natürlich immunen Tier konnte nicht mit Sicherheit festgestellt werden; vielleicht liegt eine kombinierte Serum-Leukocyten-Wirkung (Phagocytose) vor, da in einzelnen vitro-Versuchen eine Virulizidie dieser Faktoren zu beobachten war.

4) Junge Gänse lassen sich durch intravenöse Injektion virulenten Hühnerserums tödlich infizieren, alte Gänse nicht. Sowohl bei jungen wie alten Gänsen kommt es zu einer im Vergleich zum Huhne nicht hochgradigen Septikämie, die transitorisch ist und um den 5.—9. Tag abklingt.

5) Die wirksam infizierte Gans kann zur Zeit des Exitus virusfreies Blut und virusfreie Organe besitzen, d. h. das Virus läßt sich durch Verimpfung solchen Materiales auf normale Hühner nicht mehr nachweisen.

6) Intravenös injiziertes „Serum-Virus" hält sich in Tauben verschieden lange, von Stunden angefangen bis zu 3 Tagen und darüber. Tauben können auf intravenösem Wege nicht tödlich infiziert werden.

7) Optochinum hydrochloricum und basicum, Salvarsan, Natrium salicylicum oder Kombinationen dieser Chemikalien beeinflussen den Infektionsprozeß beim Huhne nicht. Urotropin scheint in geringem Grade hemmend zu wirken.

8) Das Virus passiert 2-fache Kollodiumhäute und wird durch 4- bis 7-fache zurückgehalten. 3-fache stehen an der Grenze der Permeabilität.

9) Kulturen des Virus im Kollodiumsäckchen, welche in die Peritonealhöhle normaler Hühner versenkt wurden, mißlangen. Das Virus hält sich im Kollodiumsack höchstens 6 Tage.

10) Das von uns untersuchte Hühnerpestvirus war nicht kontagiös. Verfütterungen großer Virusmengen, Kontakt mit Hühnerpestkadavern (ungezieferfreien!) bewirkten keine Ansteckung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber die bei der Staupe vorkommenden Einschlusskörperchen.

[Hygienisches Institut der Kgl. Universität zu Modena (Direktor: Prof. Dr. Francesco Sanfelice)].

Von Prof. Dr. **Francesco Sanfelice,** Leiter des Instituts.

Mit 3 Tafeln.

I. Gegenwärtiger Stand der Frage.

Die Staupe (Hundestaupe der Deutschen, Maladie des jeunes chiens der Franzosen, Dog-distemper der Engländer) ist eine bei den Hunden in den ersten 3 Lebensjahren auftretende Krankheit, die nach den Beobachtungen von Friedberger und Fröhner auch bei anderen jungen Tieren vorkommen kann, so bei Katzen, Füchsen, Wölfen, Schakalen, Hyänen und Affen. Es ist dies eine ganz und gar typische Krankheit, die eine klinische Einheit darstellt, welche sich durch Allgemeinerscheinungen auszeichnet und von Lokalisierung in der Haut, der Bindehaut, der Nasenschleimhaut, im Atmungs- und Verdauungsapparat und im Zentralnervensystem begleitet ist. Je nach der verschiedenen Ansiedelung des Virus haben wir verschiedene klinische Bilder. Die leichteste Form ist durch Entzündungserscheinungen der Schleimhaut, der Bindehaut und der Nase, sowie durch eine Bindehaut- und Nasenschleimhautentzündung gekennzeichnet, die ihrerseits durch Blutüberfülle, seröse und serös-eitrige Sekretion zum Ausdruck gelangen, welch letztere in wenigen Tagen verschwindet. In anderen Fällen bleibt das Virus nicht auf die Bindehaut und die Nasenschleimhaut beschränkt, sondern greift auch auf den Kehlkopf, die Luftröhre und die großen Bronchien über. Auch die von dieser nicht sehr schweren Form betroffenen Tiere können geheilt werden. Dringt das Virus in die mittleren und kleinen Bronchien und in die Lungen vor, so kommt es zu Bronchopneumonieen und lobären Pneumonieen mit fast immer tödlichem Ausgang. Auf die Entzündungsvorgänge in der Bindehaut und den Atmungswegen kann ein Eindringen des Virus in das Zentralnervensystem folgen, was mit dem Auftreten einer Art von epileptischen, choreatischen Erscheinungen, leichten und vollständigen Lähmungen, wirklichen einseitigen Lähmungen, Querlähmungen etc. verbunden ist, Krankheitsäußerungen, die entweder auf die verschiedene Lokalisierung des Virus in den verschiedenen Gegenden, oder aber auf die verschieden schweren, von dem Virus hervorgerufenen Verletzungen bezogen werden müssen. Außer den angeführten Lokalisationen kann es auch zur intestinalen Lokalisation kommen, neben der äußerst starke, schleimig-blutige Durchfälle und rascher Verfall des Tieres einhergehen, auf die oft der Tod folgt. Lokalisiert sich das Virus endlich in der Haut, so kommt es zur Bildung von Pusteln, und zwar da, wo die Haut am dünnsten und am wenigsten von Haaren bedeckt ist.

Gewöhnlich laufen diese verschiedenartigen pathologischen Erscheinungen der Staupe nebeneinander her. Die nervöse und intestinale Form treten gewöhnlich infolge von Krankheitserscheinungen der Luftwege oder der Augenbindehaut auf.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die infektiöse Natur der Staupe ist zwar schon im Jahre 1844 von Ramer und Karle erkannt worden, aber erst im Jahre 1875 sprach man von dem spezifischen Erreger. Semmer war der erste, der den Erreger der Staupe als einen kurzen Bacillus beschrieb, den er im Blut, in den Lungen, der Milz, der Leber und den Nieren hat feststellen können. Im Jahre 1881 hat auch Friedberger die Gegenwart dieses Bacillus nachzuweisen vermocht; in demselben Jahre hat Krajewski spezifische Krankheitserreger in Form von Mikrokokken beschrieben, die er in den Geweben und im Blute vorgefunden hatte. 1882 hat Laosson mit Bouillonkulturen von Bacillen und Mikrokokken, die aus staupekranken Hunden isoliert worden waren, die Krankheit auf junge Hunde zu übertragen vermocht. Im Jahre 1890 gelang es Legrain und Jacquot, aus den Pusteln die Gelatine verflüssigenden Mikrokokken zu züchten und durch Verimpfung dieser Mikroorganismen bei den Hunden erythematöse Flecken und Pusteln zu erzeugen. Millais hat aus der Nasenschleimhaut kranker Hunde Mikrokokken und 2 Bacillen isoliert und mittels Verimpfung dieser Kulturen die Krankheit in jungen Hunden erzeugt. Copeman hat die Untersuchungen Millais' weitergeführt und schließlich einen Coccobacillus für den spezifischen Krankheitserreger der Staupe gehalten. Im Jahre 1894 haben Zielinski, Nencki und Karpinski aus dem Nasen- und Bindehautsekret eines jungen Mopses einen dem Micrococcus pyogenes albus ähnelnden Micrococcus isoliert, der, in den Bindehautsack eines Hundes verimpft, die Krankheit hervorgerufen hat. Im Jahre 1895 gelang es Galli-Valerio, aus den Lungen, dem Gehirn, Rückenmark, dem cerebrospinalen Exsudat, dem Eiter des Sinus frontalis und Bindehautkatarrh verschiedener Hunde, die an typischer Staupe mit Lokalisationen in der Bindehaut, der Haut, in den Lungen, dem Darm und im Zentralnervensystem erkrankt waren, einen beweglichen Coccobacillus zu isolieren, der in den gefärbten Präparaten einen im Vergleich mit den Endteilen weniger stark gefärbten Zentralteil erkennen ließ. Die Ueberimpfung der Reinkultur in das subkutane Bindegewebe eines wenige Monate alten, von der Krankheit bis dahin verschont gebliebenen Hundes hat nach einer Inkubation von 11 Tagen alle Krankheitserscheinungen ergeben. Das Tier war nach 19 Tagen verendet. Die pathologisch-anatomischen und bakteriologischen Untersuchungen ließen die charakteristischen Veränderungen erkennen, sowie das Bestehen des spezifischen Mikroorganismus in den Organen. Ein junger, subkutan mit 1 ccm Kultur inokulierter Fuchs wies die Krankheitsanzeichen besonders im Zentralnervensystem auf und verendete unter paralytischen Erscheinungen. Im Jahre 1900 hat Lignières aus an Staupe erkrankten Hunden einen Mikroorganismus zu züchten vermocht, den er in die Klasse der Bakterien der hämorrhagischen Septikämien einreihte. Galli-Valerio ist der Ansicht, daß die Unterschiede zwischen dem von ihm selbst isolierten Mikroorganismus und dem von Lignières gefundenen nicht sehr groß sind und es sich wahrscheinlich da um ein und denselben Keim handle.

Carré gebührt das Verdienst, nachgewiesen zu haben, daß die Entstehung der Staupe nicht den Spaltpilzen zur Last gelegt werden kann, sondern einem filtrierbaren Virus. Mit dem durch Porzellankerzen filtrierten und in das subkutane Bindegewebe kleiner Hunde verimpften Nasenausfluß hat Carré Hautpusteln, Bindehautentzündung, Nasenschleimhautentzündung und Lungenentzündung zu erzeugen vermocht. Carré gelang es, die Gegenwart des Virus auch im Blute

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dieser, mit den durch Porzellankerzen filtrierten Flüssigkeiten inokulierten Tiere nachzuweisen.

Nach Ansicht des Verfassers erzeugt das filtrierbare Virus die anfänglichen Erscheinungen, ungewöhnlich hohe Körpertemperatur, Nasenschleimhautentzündung, Bindehautentzündung, während die anderen, durch Spaltpilze hervorgerufenen Symptome Komplikationen zuzuschreiben sind. Es wäre demnach die Staupe ein pathologischer Prozeß mit einer durch darauffolgende Infektionen komplizierten Krankheitsursache. Die erste und einzige spezifische Infektion ist demnach durch ein filtrierbares Virus hervorgerufen, das imstande ist, das phagocytäre Vermögen des infizierten Tieres zu vermindern, und anderen pathogenen Faktoren die Möglichkeit bietet, ihre Wirkung zu entfalten und zu sekundären, nichtspezifischen Schädigungen zu führen.

Wie bei anderen durch filtrierbares Virus hervorgerufenen Krankheiten, sind auch bei der Staupe Einschlüsse beschrieben worden. Die erste derartige Beschreibung rührt von Lentz her, der bei 7 an der nervösen Form der Staupe verendeten Tieren im Cytoplasma der Nervenzellen nach Mann oder nach einem eigenen Verfahren rot gefärbte, runde oder ovale Körperchen gefunden hat, deren Größe zwischen äußerst kleinen Formen und solchen vom Umfange roter Blutkörperchen schwankte.

Im Inneren dieser Einschlußkörperchen hat Lentz keine blau gefärbten Innengebilde gefunden. Außer im Ammonshorn lassen sich derartige Einschlüsse in der Hirnrinde, im Kleinhirn, in der Brücke und im Rückenmark erkennen. Bereits Standfuß hatte diese Einschlußkörperchen wahrgenommen und ihr Zustandekommen studiert. Er ist zu dem Schlusse gelangt, daß ihr Ursprung dem Austritt der Kernkörperchenmassen aus dem Kerne zugeschrieben werden müsse und dieser Befund für die Staupe pathognomonisch sei.

Nach Lentz unterscheiden sich die Einschlußkörperchen der Staupe von den Negrischen Körperchen durch die Abwesenheit von Innengebilden oder aber dadurch, daß sie sich frei oder im Innern von stark veränderten Nervenzellen vorfinden. Nach Verfasser sind die Einschlüsse einer Veränderung der plastinischen Substanz des Zellprotoplasmas und des Kerns zuzuschreiben.

Lentz hat die Einschlüsse nur im Zentralnervensystem der an Staupe erkrankten Hunde gefunden, Sinigaglia dagegen auch in der Lunge. Dieser Forscher hat bei 7 von der bronchopulmonalen Form der Staupe erfaßten Hunden auf der Höhe des Epithels der kleinen und mittleren Bronchien und ganz besonders im Innern der Epithelzellen in den in Zenkerscher Lösung fixierten und nach Mann gefärbten Stücken eigentümliche endocelluläre Formen beobachtet. Es handelt sich da um rundliche, ovale, zuweilen auch längliche Körperchen, die sich durch ihre rote Farbe auszeichnen und von dem sich mehr oder weniger stark blau färbenden Zellprotoplasma abstechen.

Diese Körperchen können verschieden groß sein; die meisten besitzen jedoch einen ziemlich kleinen Durchmesser. Die kleinen und mittelgroßen Zelleinschlüsse, gleichviel welcher Form, besitzen regelmäßige Umrisse, während die größeren und besonders die länglichen einen leicht gewellten Rand aufweisen. Kennzeichnend ist dann auch der Bau dieser endocellulären Körperchen. Ungeachtet ihrer Form und ihres Durchmessers, weisen sie stets in ihrem Innern rundliche oder

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ovale Gebilde auf, die ihnen das Aussehen weniger stark rot gefärbter Vakuolen verleihen. Fast alle diese Innengebilde haben einen ziemlich kleinen, fast gleichmäßigen Durchmesser. Zuweilen werden aber auch etwas größere sichtbar, die von kleineren umgeben sind.

Verfasser ist der Anschauung, daß die Zelleinschlüsse nicht an allen Stellen des Bronchienepithels gleichmäßig verteilt sind, ebensowenig in allen kleinen und mittleren Bronchien, so daß sie also an einigen Stellen desselben Schnittes zahlreich, an anderen nur spärlich oder gar nicht wahrgenommen werden können.

Bei 5 von den 7 untersuchten Hunden kam Sinigaglia zu einem positiven Ergebnis. Zweimal war das Resultat negativ.

In den Lungen der spontan von bronchopulmonären Erkrankungen betroffenen Tiere sowie bei den an Bronchopneumonie erkrankten Hunden war jedes Suchen nach den charakteristischen Staupeeinschlüssen vergebens.

In den Bindehautzellen eines Hundes hat Verfasser die Einschlußkörperchen mit Innengebilden wahrgenommen.

In den Nervenzellen der von der nervösen Form der Staupe erfaßten Hunde können in derselben Zelle 6—12 und mehr Einschlüsse wahrgenommen werden, die auch Innengebilde aufweisen. Diese Einschlüsse finden sich im Großhirn wie auch im Kleinhirn und dem Rückenmark, fehlen dagegen in den Spinalganglien. In der Gehirnrinde des Ammonshorns und der Grundkerne sind keine Einschlußkörperchen nachzuweisen. Dagegen findet man solche in den Ependymzellen der Hirnventrikel und in denjenigen, die die Oberfläche des Ammonshorns auskleiden.

Unter den bisher beschriebenen Einschlüssen mit Innenkörperchen unterscheidet Verfasser zwischen denjenigen, die aus strukturlosen, rosafarbenen, verschieden großen, selten an Größe ein rotes Blutkörperchen übertreffenden, rundlichen, ovalen oder stäbchenförmigen Körpern bestehen, die sich im Ammonshorn im Innern der Zellen und frei, im Innern der Purkinjeschen Zellen und frei, sowie im Innern der Nervenzellen des Rückenmarks und frei vorfinden. Diese Einschlußkörperchen ohne Innengebilde stellt Sinigaglia den von Lentz beschriebenen als gleichwertig zur Seite, ohne jedoch irgendeine Erklärung über ihre Entstehung und ihre Bedeutung zu geben.

Was die Einschlüsse mit Innengebilden anbetrifft, so glaubt Verfasser, daß es sich um zu den Protozoen gehörende Schmarotzer handelt.

Fassen wir alles zusammen, was durch die vorerwähnten Untersuchungen über die Ursache und Entstehung der Staupe vorgebracht worden ist, so können wir sagen: 1. Es sind von einigen Beobachtern Mikroorganismen isoliert worden, denen keinerlei ätiologische Bedeutung beigelegt werden kann, weil bei Verimpfung der Reinkulturen dieser Spaltpilze im Hunde die charakteristischen Veränderungen der Krankheit nicht haben erzeugt werden können. 2. Von einigen Forschern sind Bacillen isoliert worden (zur Gruppe der Erreger der hämorrhagischen Septikämieen gehörende Kokkobacillen, die, in Reinkultur in Hunde verimpft, imstande waren, einige Symptome der Krankheit wiederzugeben (Galli-Valerio, Lignières). Bei der Staupe tritt das zutage, was sich auch bei anderen, durch filtrierbares Virus hervorgerufenen Krankheiten (Schweinepest, gelbes Fieber, Blattern) wahrnehmen läßt; es können nämlich während der Krankheit und nach dem Tode Mikroorganismen vorgefunden werden, die, in Reinkultur in die Tiere verimpft, daselbst einige der wichtigsten Krankheitssymptome zu erzeugen ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mögen. Noch aber ist das letzte Wort nicht gesprochen über die Bedeutung der Spaltpilze bei der Entstehung dieser Krankheiten. Noch kann nicht mit Sicherheit ausgesagt werden, ob sie ihre krankheitsverursachende Wirkung zur gleichen Zeit wie das filtrierbare Virus ausüben, ob sie erst dann in Tätigkeit treten, wenn das filtrierbare Virus, den Organismus schwächend, ihnen den Boden vorbereitet hat, oder ob das filtrierbare Virus die Folge ihrer pathogenen Einwirkung ist. 3. Bei der Staupe, wie auch bei anderen durch das filtrierbare Virus hervorgerufenen Krankheiten (Wut, Blattern, Molluscum contagiosum, Taubenpocken, Molluscum der Amphibien, Vogelpest usw.), werden Einschlüsse angetroffen, die von einigen Beobachtern als Parasiten erklärt, von anderen dagegen als Reaktionsanzeichen der der Einwirkung des filtrierbaren Virus ausgesetzten Zellelemente oder aber als Hüllen vermuteter, im Innern der Einschlüsse enthaltener, kleinster Parasiten (Innengebilde, Chlamydozoen) gedeutet werden.

II. Befund der Einschlüsse in den Organen staupekranker Hunde.

Die nachfolgenden in Hinsicht auf die Einschlüsse vorgenommenen Beobachtungen entstammen 7 an Staupe erkrankten Hunden. Kleine Stücke wurden allen Organen entnommen und in Zenkerscher Lösung fixiert. Die Schnitte wurden nach dem Mannschen Verfahren gefärbt, mit einer wässerigen Lösung von 1-proz. Malachitgrün und einer solchen von 1-proz. Safranin zu gleichen Teilen, sowie mit Pironin und Methylgrün nach d'Amato, mit einer Methylenblaulösung nach Loeffler gefärbt und daraufhin mit einer alkoholischen Pikrinsäurelösung behandelt. Mit dieser letztgenannten Färbemethode werden die Innengebilde viel besser zur Darstellung gebracht als mit den anderen Verfahren.

Der erste in Untersuchung genommene Hund zeigte Bindehautkatarrh, Nasenfluß und nervöse Symptome. Die Sektion fand am 12. März d. J. statt. Es wurden in den Lungen Schädigungen vorgefunden in Form von bronchopneumonischen Herden mit grauer Hepatisation. Die Einschlüsse ließen sich in den Lungen und den mit dem Darm in Zusammenhang stehenden Lymphdrüsen in großer Fülle nachweisen, spärlich in der Milz und der Cerebrospinalachse, ebenso spärlich in dem Bindehautepithel, in großer Zahl dagegen in den zur Bindehaut gehörenden Drüsen, spärlich wiederum im Epithel der Nasenschleimhaut. Keine Einschlüsse sind in den Nieren, der Leber, dem Pankreas, dem Darm und in dem Knochenmark festgestellt worden. Spärliche und kleine Einschlüsse wurden in den Nebennieren beobachtet, ebenso in den Hoden, doch wurde, wie ich nachstehend noch näher erörtern werde, diesen Einschlüssen gar kein diagnostischer Wert beigemessen, da sie auch in den Nebennieren und den Hoden normaler Hunde vorzufinden sind, während es mir bisher niemals gelungen ist, in den anderen Organen normaler Hunde Einschlußkörperchen wahrzunehmen.

Der zweite von Staupe befallene Hund wurde am 3. April d. J. seziert und zeigte Nasenfluß, Bindehautkatarrh, ausgedehnte graue Hepatisation der Lungen, etwas vergrößerte Milz mit mehreren dunkelblauen Flecken sowie eine in fettiger Entartung befindliche Leber. Im Dünn- und Dickdarm wurden dunkelrote Flecken wahrgenommen. Was die Einschlüsse anbetrifft, so wurden deren viele in den Lungen, und zwar ebensowohl in den Epithelzellen der großen, mittleren und kleinen Bronchien, als auch in den Deckzellen der Alveolen wahrgenommen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mehrere fanden sich im Epithel der Bindehaut und in den Epithelzellen der dazu gehörenden Drüsen. In nicht unbedeutender Anzahl konnten sie auch in den Epithelzellen der Nasenschleimhaut wahrgenommen werden. Eine mäßige Anzahl von Einschlüssen war auch im Pankreas und in der Milz anzutreffen. Zahlreich waren die Einschlußkörperchen hingegen in den Epithelzellen des Darms, und zwar da, wo die dunkelroten Flecken hervortraten. In den mit dem Darm in Zusammenhang stehenden Lymphdrüsen fanden sich viele Einschlüsse vor, im Mark der langen Knochen ziemlich spärliche. In der Leber und den Nieren fehlten die Einschlüsse ganz und gar, in der Cerebrospinalachse waren sie sehr spärlich vorhanden.

Der dritte staupekranke Hund wurde am 4. April d. J. vermittelst Verblutung getötet. Außer einer eiterigen Bindehaut- und Nasenschleimhautentzündung wurden bei der Sektion in den Lungen Herde von Bronchopneumonie mit roter Hepatisation nachgewiesen. Einschlüsse wurden in der Bindehaut und den adnexen Drüsen vorgefunden, ebenso in der Nasenschleimhaut, in den Lungen, der Milz, der Bauchspeicheldrüse, in den zum Darm gehörenden Lymphdrüsen und in der Cerebrospinalachse. Nicht vorhanden waren sie in den Nieren, der Leber, im Knochenmark und dem Darm.

Der vierte staupekranke Hund wurde am 8. April d. J. getötet. Bei der Sektion wurden spärliche, aus kleinen bronchopneumonischen Herden bestehende Schädigungen vorgefunden. Im Dünndarm und Dickdarm fanden sich hämorrhagische Flecken. Keinerlei Schädigung ließ sich in den Nieren, der Leber und der Milz nachweisen. Die Hirnrinde und die Hirnhäute erschienen injiziert. Einschlußgebilde waren im Epithel der Bindehaut und den dazu gehörenden Drüsen, in der Nasenschleimhaut, in den Lungen, in der Milz, der Bauchspeicheldrüse, im Darm, in den zum Darm gehörenden Lymphdrüsen und in der Cerebrospinalachse vorhanden. Wie gewöhnlich, waren aber keine in den Nieren und der Leber vorzufinden.

Der 5. Fall von Staupe ist an einem im Institut geborenen und aufgewachsenen Hündchen zur Beobachtung gelangt, das mit kranken Hunden in Berührung gekommen war, sich so die Krankheit zugezogen hatte und am 15. April d. J. verendet ist. Die Bindehaut und Nasenschleimhaut waren außergewöhnlich stark mit Blut angefüllt. In den Lungen fanden sich spärliche bronchopneumonische Herde mit beschränkter, roter Hepatisation. Einschlußgebilde wurden in den Lungen, in der Bindehaut und den dazu gehörenden Drüsen, in der Nasenschleimhaut, der Milz, in den zum Darm gehörenden Drüsen und in der Cerebrospinalachse vorgefunden. Vollständig fehlten solche in der Bauchspeicheldrüse, in den Nieren, in der Leber und im Darm.

Der 6. Fall von Staupe wurde an einem jungen Bernhardinerhund beobachtet, der mit nervösen Erscheinungen ins Institut gebracht worden war. Das Tier vermochte sich nicht mehr auf den Füßen zu halten und litt von Zeit zu Zeit an epilepsieartigen Bewegungen. Außer nervösen Symptomen hatte das Tier noch Bindehaut- und Nasenschleimhautkatarrh. Angesichts der schweren Krankheitserscheinungen wurde es vermittelst Verblutung getötet. Der Sektionsbefund war folgender: Auf die vorderen Ränder beschränkte bronchopneumonische Lungenschädigungen, stark injizierte Hirnhäute, Zunahme der cerebrospinalen Flüssigkeit. Keinerlei Schädigung war in den Organen der Bauchhöhle vorhanden. Einschlüsse waren in den Lungen nachzuweisen, dann in der Bindehaut und den

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

damit im Zusammenhang stehenden Drüsen, in der Nasenschleimhaut, der Milz, der Bauchspeicheldrüse, in den zum Darme gehörenden Lymphdrüsen und in der Cerebrospinalachse. Keine Einschlüsse waren in den Nieren, der Leber und dem Darme zu finden.

Der 7. Fall von Staupe wurde an einer jungen Jagdhündin beobachtet, die Bindehautkatarrh mit eiteriger Sekretion und schleimigeiterigen Nasenausfluß darbot. Das Tier wurde am 4. Mai d. J. vermittelst Verblutung getötet. Bei der Sektion wurden in den Lungen aus zahlreichen, ausgedehnten, grauen Hepatisationsflecken bestehende Lungenschädigungen angetroffen. In den Organen der Bauchhöhle waren keine Veränderungen nachweisbar. Auf der nicht behaarten Bauchdecke wurden verschiedene Pusteln beobachtet. Was den Befund an Einschlüssen in den Organen anbetrifft, so konnten deren im Bindehautepithel und den dazu gehörigen Drüsen, im Epithel der Nasenschleimhaut und den entsprechenden Drüsen, im Malpighischen Epithel in Zusammenhang mit den Hautschädigungen und in den dazu gehörenden Drüsen in der Haut, in den Lymphdrüsen der Leiste und des Unterleibs, den Lymphdrüsen des Halses und des Mediastinums, den Lungen, der Bauchspeicheldrüse, der Milz, in den Eierstöcken, im Knochenmark und in der Cerebrospinalachse wahrgenommen werden. Dagegen konnten keine festgestellt werden in den Nieren, der Leber, dem Darm, der Netzhaut und den Speicheldrüsen.

Aus dem im vorstehenden über die 7 zur Untersuchung gelangten Staupefälle Gesagten geht hervor:

1) Bei allen 7 Hunden sind insofern multiple Lokalisationen des Staupevirus beobachtet worden, als außer den pathologischen Erscheinungen auf seiten der Bindehaut, der Nasenschleimhaut und des Nervensystems beständig auch Schädigungen in den Lungen und nicht immer im Darm und der Haut beobachtet worden sind.

2) Die charakteristischen Einschlüsse werden nicht nur, wie schon Lentz und Sinigaglia beobachtet haben, im Zentralnervensystem, im Bindehautepithel und in den Lungen vorgefunden, sondern auch im Lymphapparat, in der Bauchspeicheldrüse, der Milz, dem Knochenmark, Darm, in den Eierstöcken, der Haut und der Schleimhaut.

III. Bau und Entstehung der Einschlüsse.

In den Lungen der von Staupe befallenen Hunde finden sich die Einschlußgebilde in großer Zahl vor und lassen sich da nicht nur im Bronchienepithel, sondern auch in den die Alveolen überziehenden Epithelzellen wahrnehmen. Was ihre Größe anbetrifft, so gibt es deren äußerst kleine, wie winzige Körnchen aussehende, und auch andere, die viel größer sind als die Kerne der Epithelzellen. In bezug auf die Form müssen 2 Gruppen unterschieden werden, deren erste die regelmäßigen, rundlichen oder ovalen Formen mit deutlichen, regelmäßigen Rändern umfaßt, während die zweite die unregelmäßigen Formen mit gewelltem Rande umschließt. Was die Struktur anbetrifft oder, besser gesagt, die Art und Weise, auf welche sie die rote Farbe des Eosins aufnehmen, so können sie da bei Verwendung der Mannschen Methode leicht in 2 Klassen eingeteilt werden, deren erste die Einschlüsse umfaßt, die sich gleichmäßig färben, während zur zweiten die Einschlüsse gehören, die in ihrem Innern zuweilen gleichgroße, zuweilen auch verschieden große Vakuolen besitzen. Diese Vakuolen oder sogenannten Innengebilde können in den rundlichen und ovalen und auch in den un-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

regelmäßig geformten Einschlüssen mit gewellten Rändern angetroffen werden. Die Einschlußgebilde sind nicht an allen Stellen des Epithels der großen, mittleren und kleinen Bronchien gleichmäßig verteilt, sondern finden sich stellenweise vor, so daß sie also in derselben Gegend bei den einen in ziemlich bedeutender Menge vorhanden sind, bei den anderen dagegen spärlich sein oder geradezu fehlen können. Es werden in den die großen, mittleren und kleinen Bronchien (Taf. I, Fig. 1) auskleidenden Epithelzellen gewöhnlich ziemlich kleine und zahlreiche Einschlüsse wahrgenommen, und zwar mehr in dem Teile des Cytoplasmas, der der Lichtung der Bronchien zugewandt ist, als in dem Grundteil des Cytoplasmas. Auch einige dieser kleinen Einschlüsse lassen hin und wieder in ihrem Innern kleine Vakuolen erkennen, während andere homogen aussehen. Die Einschlüsse können keineswegs mit den roten Blutkörperchen oder mit den Resten von roten Blutkörperchen verwechselt werden, denn sie nehmen eine kräftigere rote Farbe an als die roten Blutkörperchen. In den die Lungenalveolen auskleidenden Epithelzellen können äußerst kleine Einschlüsse vorgefunden werden, dann auch solche von mittlerer Größe und sehr große, die eine rundliche oder unregelmäßige, zuweilen vollständig homogene Form besitzen (Taf. I, Fig. 2 und 4), zuweilen auch zahlreiche Innengebilde (Taf. I, Fig. 12), deren einige in ihrer Mitte ein rotes Körnchen führen. Niemals aber ist es mir gelungen, in diesen Einschlüssen, wie bei der Wutkrankheit, blau gefärbte Innengebilde zu erkennen. Hin und wieder habe ich in den Epithelzellen der Alveolen größere, unregelmäßig geformte Kerneinschlüsse wahrgenommen (Taf. II, Fig. 2) mit gewellten Umrissen, deren einige winzige, vakuoläre Innengebilde besaßen, andere dagegen vollauf homogen waren.

In den Epithelzellen der Bindehaut und in den dazugehörenden Drüsen der an Staupe erkrankten Hunde werden beständig Einschlüsse angetroffen. In den Epithelzellen der Bindehautschleimhaut finden sich regelmäßig geformte, rundliche oder ovale Einschlüsse mit oder ohne Innengebilde, außerdem aber auch sehr unregelmäßig geformte Einschlüsse (Taf. I, Fig. 13) mit netzartiger oder netzfragmentartiger Lagerung, die an den von Golgi beschriebenen Netzapparat erinnern. Alle diese Einschlüsse sind nicht gleichmäßig auf alle Epithelzellen verteilt, sondern es finden sich neben Zellengruppen mit Einschlüssen auch andere ohne solche. Im allgemeinen weisen die Einschlüsse enthaltenden Zellen außer leicht vergrößerten Kernen und Zellplasmen keine besonderen Merkmale auf. Im Innern der Kerne werden oft rot gefärbte Kernkörperchenmassen und mehr oder weniger zahlreiche rote Körnungen wahrgenommen, die im Karyoplasma zerstreut liegen. Zahlreicher als in den Epithelzellen der Bindehaut werden die Einschlüsse in den Epithelzellen der zur Bindehaut gehörenden Drüsen angetroffen (Taf. I, Fig. 3). In diesen Drüsenelementen sind die rundlichen oder ovalen, kleinen und großen Einschlüsse mit und ohne Innengebilde vorherrschend, die gewöhnlich von einem hellen Hof umgeben sind. In geringerer Zahl finden sich die unregelmäßig gestalteten Einschlüsse vor. Auch in den zur Bindehaut gehörenden Drüsen sind die Einschlüsse nicht gleichmäßig verteilt, sondern finden sich nur stellenweise vor. Inmitten von Drüsenelementengruppen ohne Einschlüsse findet man hin und wieder auch eine Gruppe, die viele Einschlußkörperchen enthält.

In den Epithelzellen der Nasenschleimhaut habe ich weniger Einschlüsse angetroffen als in den Epithelzellen der Bindehaut; erstere

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

haben eine regelmäßige, rundliche oder ovale Form und sind von einem hellen Hof umgeben (Taf. II, Fig. 6). Zuweilen stößt man auch auf 2 oder mehr Einschlußgebilde, die in einem den Kern umgebenden hellen Raum liegen. Wie die anderen Einschlüsse, zeigen sich auch diese zuweilen homogen und vom Eosin gleichmäßig gefärbt, andere Male mit vakuolären Innengebilden. Die in den Cytoplasmen der Epithelzellen der Nasenschleimhaut anzutreffenden Einschlüsse haben eine sehr große Aehnlichkeit mit den Guarnierischen Körperchen, die sich in den Plasmen der Kaninchenhornhautepithelzellen nach Einführung der Lymphe beobachten lassen.

In der Haut können die Einschlüsse an der Stelle der Schädigungen wahrgenommen werden; sie zeigen sich da in runder oder ovaler Gestalt, mit oder ohne vakuolenartige Innengebilde, von einem hellen Hof umgeben. Auch diese Einschlüsse erinnern stark an diejenigen, die in der Haut der von Blattern befallenen Individuen angetroffen werden und die sich durch das Mannsche Verfahren ebenfalls rot färbten. In den zur Haut gehörenden Drüsen habe ich keine Einschlüsse gefunden. In den Lymphdrüsen der 7 an Staupe erkrankten und von mir untersuchten Hunde habe ich beständig die charakteristischen Einschlüsse gefunden; bei den einen in großer Fülle, bei den anderen nur in geringer Anzahl. Sowohl in den Lymphdrüsen der Leiste, des Halses, des Mediastinums wie auch in den zum Darm gehörenden lassen sich mehr oder weniger ausgedehnte Gruppen lymphoider Elemente erkennen, in deren Cytoplasmen Einschlußkörperchen enthalten sind. Es können da runde, ovale oder auch unregelmäßig gestaltete Einschlüsse mit oder ohne Innengebilde wahrgenommen werden, die gewöhnlich von einem hellen Hof umgeben sind (Taf. I, Fig. 5). Die Kerne der die Einschlüsse enthaltenden Zellelemente weisen kleine, rot gefärbte Kernkörperchenmassen auf. Auch in den lymphoiden Elementen des Knochenmarkes können die Einschlüsse angetroffen werden. Weder in den Lymphdrüsen, noch im Knochenmark der normalen Hunde habe ich jemals Einschlußgebilde angetroffen. Wie in den Lymphdrüsen finden sich auch in der Milz Einschlüsse. In der Bauchspeicheldrüse sind die Einschlüsse gewöhnlich nur wenig zahlreich und besitzen eine regelmäßige rundliche oder ovale Gestalt mit oder ohne Innengebilde, die von einem hellen Hof umgeben sind (Taf. I, Fig. 6).

Im Darme sind die Einschlüsse in großer Zahl, stellenweise verteilt, vorhanden. In einem Querschnitt zeigen sich Schleimhautfalten, in denen sehr viele enthalten sind, daneben aber auch andere, die deren gar keine enthalten (Taf. I, Fig. 14). Die Einschlüsse können eine regelmäßig runde oder ovale Gestalt besitzen, Innengebilde aufweisen oder auch nicht, sie können die allerverschiedensten unregelmäßigen Gestalten darbieten und sind in dem der Lichtung zugewandten Teil der Cytoplasmen zahlreicher vorhanden als in dem der Basis zugewandten. In den von den staupekranken, aber im Darme keine makroskopischen Schädigungen aufweisenden Hunden herrührenden Darmschnitten habe ich niemals Einschlüsse angetroffen.

In den Nebennieren der an Staupe erkrankten Hunde finden sich, besonders nach dem Rindenteile zu, hin und wieder zahlreiche, durch Eosin rot gefärbte, teils im Zellplasma eingeschlossene, teils infolge Zerstörung der sie enthaltenden Zellelemente frei gewordene Körperchen vor. Außer diesen in der Rindensubstanz gruppenweise auftretenden Körperchen werden noch andere in nicht unbedeutender Anzahl in den

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Plasmen der Rindenzellen und Markzellen wahrgenommen. Diese letzteren lassen sich in 2 Gruppen einteilen. Zur ersten gehören die rundlichen oder ovalen, ziemlich kleinen Einschlüsse mit oder ohne Innengebilde, die den Einschlüssen vollauf ähneln, welche in den anderen Organen der an Staupe erkrankten Hunde aufgefunden werden. Zur zweiten Gruppe dagegen gehören Einschlußkörperchen, die mit den charakteristischen Einschlüssen der Staupe und der anderen Krankheiten, bei denen ähnliche Gebilde vorgefunden werden, nichts zu tun haben, da sie erstens eine viel kräftigere rote Farbe annehmen, zweitens gefranste Ränder haben und meistens aus kleinen, ineinander übergehenden Massen gebildet erscheinen, die kristallartig aussehen.

In den Nebennierenschnitten von normalen Hunden habe ich stets zu den beiden letzten der vorerwähnten Kategorieen gehörende Einschlüsse vorgefunden, während es mir nie gelungen ist, die endocellulären und freien Einschlußgruppen nachzuweisen, die ich in der Rindensubstanz der an Staupe erkrankten Hunde angetroffen habe. In Hodenschnitten der an Staupe leidenden Hunde, besonders in den Plasmen der der Peripherie der Samenkanälchen zu gelegenen Spermatoblasten, werden kleine, zahlreiche Einschlüsse beobachtet. Auch in der Lichtung der Kanälchen werden zuweilen rote, freie, runde oder ovale Körperchen mit und ohne Einschlüsse wahrgenommen, die unabhängig sind von den Spermatozoen und deren Kopfenden nach dem Mannschen Verfahren eine kräftig rote Farbe annehmen. Diesen Einschlüssen kann man, wie gesagt, keinen spezifischen Wert beimessen, da sie auch in den Hodenschnitten normaler Hunde aufzufinden sind. Wie bekannt, hat Manouélian im normalen Rattenhoden Gebilde gefunden, die den Negrischen Körperchen ungemein ähneln (Körperchen der Hodenrestkörper).

In den Cytoplasmen der Eierstockkeimzellen eines der an Staupe erkrankten Tiere habe ich regelmäßig gestaltete, kleine, mittlere und große, runde und ovale Einschlüsse mit und ohne Innengebilde wahrgenommen. In den Eierstockschnitten normaler Hunde habe ich aber niemals Einschlüsse beobachtet.

Im Zentralnervensystem der an Staupe erkrankten und von mir beobachteten Hunde habe ich die Einschlüsse stets vorgefunden, doch nur ziemlich spärlich im Vergleiche zu denen, die in den Lungen, dem Darm, den Lymphdrüsen und der Bindehaut gefunden werden. Wie in den anderen Organen, sind sie nicht gleichmäßig verteilt, sondern zonenweise. Diese Einschlußkörperchen der Staupe siedeln sich nirgends mit Vorliebe an, wie dies bei der Wut der Fall ist. Sie können frei und auch in den Cytoplasmen der Nerven- und Nervenstützgewebezellen vorkommen. Was ihre Form anbetrifft, so können sie regelmäßige, runde oder ovale, auch unregelmäßige Gestalt besitzen, länglich sein und gewellte Umrisse aufweisen. Zuweilen zeigen sie Innengebilde (Taf. I, Fig. 8), die wie Vakuolen aussehen, andere Male wieder sind sie vollständig homogen (Taf. II, Fig. 15 u. 16) und von glänzend roter Farbe, wenn die Schnitte nach der Mannschen Methode gefärbt worden sind. Hin und wieder habe ich auch, besonders in den Purkinjesche Zellen, im Kern zahlreiche, rote, verschieden große Körnungen beobachtet und ebensolche im Cytoplasma (Taf. II, Fig. 16). Die großen, homogenen, in den Cytoplasmen der Nervenzellen (Taf. II, Fig. 15) beobachteten Einschlüsse entsprechen den zum ersten Male von Lentz bei der Staupe beobachteten und beschriebenen Körperchen. Auch in den Nervenzellen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

finden sich große Einschlüsse, die, gleich den in anderen Organen beschriebenen, im Innern zahlreiche, vakuolenartige Innengebilde aufweisen. Es sind dies die von Sinigaglia beschriebenen und als von den Lentzschen abweichend erklärten Formen. Wie ich im Nachfolgenden auseinandersetzen werde, besteht kein Grund, die letztgenannten Formen als verschieden von den ersteren aufzufassen. Im Ammonshorn werden gewöhnlich keine Einschlüsse mit Innengebilden wahrgenommen, während ich in den Cytoplasmen der Ependymzellen kleine Einschlüsse zu erkennen vermochte.

Haben wir typische Fälle vor uns mit vielen Einschlüssen, so vermögen wir schon aus der Prüfung der Nervensystemschnitte die Differentialdiagnose zwischen Wut und Staupe zu stellen. Werden in den Nervenzellen des Ammonshorns zahlreiche Einschlüsse mit Innengebilden angetroffen, so kann da leicht Wut diagnostiziert werden, weil, wie gesagt, bei den an der Staupe zugrunde gegangenen Hunden in den Nervenzellen des Ammonshorns die Einschlüsse nicht so zahlreich und auch mit nicht so vielen Innengebilden angetroffen werden, wie bei der Wut. Haben wir jedoch Wutfälle vor uns, bei denen in den Zellen des Ammonshorns die Einschlüsse spärlich sind oder vollständig fehlen, so kann die Diagnose unmöglich auf Grund der mikroskopischen Prüfung der nach der Mannschen Methode gefärbten Nervensystemschnitte allein gestellt werden. Es ist also auf jeden Fall ratsam, außer kleinen Stücken des Ammonshorns und des Kleinhirns des verdächtigen Hundes auch die Augenlider, Nickhäute und kleinen Lungenstücke in Zenkerscher Lösung zu fixieren. In den Schnitten der Augenlider und Lungen an Wut verendeter Hunde habe ich niemals Einschlüsse festgestellt, während ich solche, wie bereits erwähnt, beständig zahlreich in den Schnitten der Augenlider und Lungen an Staupe zugrunde gegangener Hunde gefunden habe.

In der Netzhaut der an Staupe gestorbenen Tiere habe ich niemals Einschlüsse wahrnehmen können, desgleichen niemals in der Leber, den Nieren und in den Speicheldrüsen derselben Tiere.

Sinigaglia ist der Ansicht, daß die Lentzschen Körperchen sich von den von ihm beschriebenen durch das Fehlen von Innengebilden unterscheiden. Es steht fest, daß, wenn die Schnitte nach dem Mannschen Verfahren gefärbt werden, einige Einschlüsse homogen sind, ohne Spur von Innengebilden. Dasselbe läßt sich sehr oft wahrnehmen, wenn nach demselben Verfahren die Hirnschnitte von an Wut verendeten Igeln (Erinaceus europaeus) gefärbt werden, welche infolge intrakranieller Inokulation zugrunde gegangen sind, und bei denen also das Hirn zahlreiche Negrische Körperchen aufweist. Der Grund dafür liegt darin, daß die Mannsche Methode nicht imstande ist, die Innengebilde aller Einschlußkörperchen sichtbar werden zu lassen. Werden dagegen die Schnitte, anstatt mit der Mannschen Methode, zuerst 5 Minuten lang mit der Loefflerschen Methylenblaulösung gefärbt, darauf in Wasser gewaschen und 1 Minute lang mit konzentrierter, alkoholischer Pikrinsäurelösung behandelt, so können in allen Einschlüssen die Innengebilde sehr deutlich erkannt werden. Es muß daher das Wesen der Lentzschen Körperchen dasselbe sein wie das der anderen Einschlüsse, die Innengebilde aufweisen. Der beste Beweis dafür sind die nach demselben Verfahren ausgeführten Färbungen der in anderen pathologischen Prozessen sich vorfindenden Einschlüsse.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wie ich in einer anderen Arbeit dargelegt habe, nehmen, wenn man Pockenknötchenschnitte von Tauben nach dem Mannschen Verfahren färbt, alle Einschlüsse die rote Eosinfarbe gleichmäßig an, ohne auch nur eine Spur von Innengebilden zu verraten. Werden dieselben Schnitte dagegen mit Loefflerschem Blau und mit Pikrinsäure gefärbt, so nimmt man im Innern einiger Einschlüsse Innengebilde wahr in Gestalt von Körnchen oder kleinen Stäbchen. Das alkalische Blau eignet sich vorzüglich dazu, den basophilen oder plastinischen Teil der Einschlüsse hervortreten zu lassen.

Noch besser läßt sich diese Tatsache beim Molluscum contagiosum der Amphibien erkennen, bei dem ich, wie ich in einer anderen Arbeit gezeigt habe, Einschlußkörperchen nachweisen konnte, welche eine große Aehnlichkeit hatten mit den Negrischen Körperchen, die bei Färbung der Schnitte nach Mann eine rote Farbe annehmen. Bedient man sich dieses Färbeverfahrens, so lassen sich viele Einschlußkörperchen mit vakuolenartigen Innengebilden wahrnehmen, doch ist die Zahl derer, die in ihrem Innern blau gefärbte, basophile oder plastinische Gebilde aufweisen, ziemlich gering. Werden die Schnitte hingegen mit alkalischem Loeffler-Blau und mit Pikrinsäure gefärbt, so werden zahlreiche Einschlüsse mit blau gefärbten Innengebilden sichtbar, von denen einige volle Aehnlichkeit haben mit den von Negri in den nach dem Romanowskyschen Verfahren gefärbten Präparaten erhaltenen Bildern, die von Negri als Sporenbildungen aufgefaßt worden sind. Die Einschlußkörperchen beim Molluscum contagiosum der Amphibien nehmen, ebenso wie Einschlußkörperchen der Taubenpocken, ihren Ursprung von den Kernkörperchenmassen, die aus chromatischer und plastinischer Substanz bestehen; erstere ist acidophil und nimmt mit Eosin eine rote Farbe an; letztere ist basophil und färbt sich blau, wenn zum Mannschen Verfahren gegriffen wird. Diese beiden Substanzen sind nun aber in den Einschlüssen in ganz verschiedener Weise gelagert und führen zu den verschiedenen Formen von Innenkörperchen, die bei Verwendung des Loefflerschen alkalischen Blaus deutlich zum Vorschein gebracht werden können. Gewöhnlich ist in den Kernkörperchenmassen der basophile Teil kleiner als der acidophile. Eben deshalb ist in den Einschlußkörperchen die nach Mann mit Eosin rot gefärbte und vermittels Pikrinsäure grünlichgelb färbbare Grundsubstanz reichlicher vorhanden als die basophile Substanz, die nach dem Mannschen Verfahren blau und bei Verwendung von Methylenblau und Pikrinsäure dunkelblau wird.

Wie bei dem Molluscum contagiosum der Amphibien können auch bei den Taubenpocken die Einschlußkörperchen, die doch von den Kernkörperchenmassen abstammen, nicht parasitäre Formen sein, da endonukleäre Parasiten ausgeschlossen sind. Es handelt sich da um den Kern ausmachende Teile, die demgemäß aus acidophiler und basophiler Substanz bestehen.

Das Zustandekommen der Einschlüsse ist nur der Ausdruck der Reaktion der Zellelemente auf die Einwirkung des Virus.

Die Einschlüsse bei der Staupe kommen gerade so zustande, wie dies bei den Taubenpocken und dem Molluscum contagiosum der Amphibien beobachtet worden ist. Aus einigen der auf den Tafeln wiedergegebenen Abbildungen geht die Entstehung der Einschlüsse aus den Kernkörperchenmassen sehr deutlich hervor. Wenn da nicht alle einzelnen Phasen verfolgt werden können, so kommt das daher, daß es sich um Fälle handelt, bei denen der pathologische Prozeß sich schon in

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einem vorgerückten Stadium befand. Wie ich im Nachstehenden auseinandersetzen werde, ist es mir bei Verimpfung des Staupevirus in das Gehirn von Igeln gelungen, die Entstehung der Einschlüsse genau festzustellen.

Man kann nicht mit Sicherheit behaupten, daß alle Einschlußkörperchen denselben Ursprung haben oder daß einige, besonders die unregelmäßig geformten, die an das Maschenwerk Golgis erinnern, von dem Cytoplasma abstammen. In einer anderen Arbeit werde ich dartun, daß bei der experimentellen Wut der Igel nachgewiesen werden kann, daß einige Einschlußkörperchen cytoplasmatischen Ursprungs sind.

IV. Die Verimpfung des Staupevirus in Igel.

Nachdem ich bei anderen Untersuchungen gefunden hatte, daß die Igel sich vorzüglich zur Erforschung der Wut eignen, kam mir der Gedanke, sie zur Verimpfung des Staupevirus heranzuziehen. In der Zeit, in der sich diese Tiere im Lethargus befinden, ist es möglich, sie sich zu verschaffen; in den anderen Monaten sind sie dagegen nur äußerst schwer einzufangen.

Die Impfung in die Schädelhöhle ist eine leichte Sache, wenn man sich keiner Trepane bedient, die bei der Dünne und außergewöhnlichen Zerbrechlichkeit der Schädelknochen leicht zu Blutungen und zum Tode des Tieres führen. Nach erfolgtem Einschnitt in die zwischen den beiden Augen gelegene Hautzone macht man mit einem Stichel ein kleines Loch, das einer dünnen Spritzennadel den Durchgang gestattet. Wenn man so vorgeht, bietet die Operation keine Schwierigkeiten, und der Tod des Tieres ist nicht zu befürchten.

Mit der in physiologischer Lösung erhaltenen Aufschwemmung des Hirns des ersten an Staupe erkrankten und im März dieses Jahres getöteten Hundes wurden gleichzeitig 2 Igeln und einem 2 Monate alten Hündchen Einspritzungen in die Schädelhöhle gemacht. Von den beiden Igeln verendete der 1. nach 19, der 2. nach 28 Tagen. In den Gehirnschnitten wurden keine Einschlüsse wahrgenommen. Man berücksichtige, daß die geimpften Tiere in Räumen mit einer Temperatur von 9—10° C gehalten worden sind. Das Hündchen ging nach 7 Tagen zugrunde; in den Gehirnschnitten fanden sich keine Einschlüsse vor.

Gehirnsubstanzemulsion des Hündchens wurde dann 2 Igeln in die Schädelhöhle eingespritzt; der 1. verendete nach 23, der 2. nach 25 Tagen. In den Gehirnschnitten des 2. Igels waren keine Einschlüsse anzutreffen, wohl aber in den Schnitten des nach 23 Tagen verendeten Igels. Ich will hier noch darauf aufmerksam machen, daß ich in den Gehirnschnitten aller im Laboratorium spontan zugrunde gegangenen Igel niemals weder kleine, noch große Einschlußkörperchen gefunden habe. Die in den Gehirnschnitten des nach 23 Tagen verendeten Igels beobachteten Einschlüsse (Fig. 20, 22, 23, 27, Taf. III) sind nur um weniges größer als die Kernkörperchenmassen; einige dieser weisen im Innern winzige Vakuolen auf, während andere sich vollständig homogen zeigen. Diese Einschlüsse sind im Sagittalschnitt des ganzen Hirns fast gleichmäßig verteilt; ein Lieblingssitz läßt sich nicht ausfindig machen. Derartige Einschlüsse können auch im Kleinhirn, besonders in den Purkinjeschen Zellen, wahrgenommen werden. In nicht unbedeutender Anzahl finden sich solche auch in den Cytoplasmen der Ependymzellen vor. In den Gehirnschnitten der auch nach 15—16—17 Tagen infolge der Einspritzung von Wutvirus in die Schädelhöhle zugrunde gegangenen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Igel werden zahlreiche Negrische Körperchen, besonders in den Cytoplasmen der Nervenzellen des Ammonshorns, wahrgenommen, und zwar kleine, mittlere und andere, die an Größe den Kernen der Nervenzellen gleichkommen. Die geringe Größe der durch die Einwirkung des Staupevirus hervorgerufenen Einschlußkörperchen steht sicherlich in keiner Beziehung zur kurzen Dauer der Krankheit beim Igel.

Die Entstehung der im Igelhirn angetroffenen Einschlußkörperchen aus den Kernkörperchenmassen geht aus dem Umstande hervor, daß gewöhnlich alle Nervenzellen, deren Cytoplasmen Einschlüsse aufweisen, in den Kernen keine Kernkörperchenmassen enthalten. Die Kerne der Nervenzellen, deren Cytoplasmen Einschlußkörperchen besitzen, sind gewöhnlich vergrößert und arm an chromatischer Substanz. In den Zellplasmen werden hin und wieder Vakuolen beobachtet, in denen zuweilen Einschlußkörperchen oder Neurogliakerne zu erkennen sind. Außer den in den Nervenzellenplasmen beschriebenen Einschlüssen werden solche auch im Innern der Nervenstützgewebezellen und hin und wieder auch frei gelagerte angetroffen. In den Organschnitten des 23 Tage nach der intrakraniellen Viruseinspritzung zugrunde gegangenen Igels sind keine Einschlußkörperchen wahrgenommen worden.

Es verdient ferner noch eine Tatsache hervorgehoben zu werden, die bei einer Reihe von Versuchen, bei denen der Durchgang des Wutvirus durch die Igel erprobt worden ist, sich wiederholt eingestellt hat, daß nämlich in den Gehirnschnitten des Hündchens keine Einschlüsse anzutreffen waren, wohl aber in den Gehirnschnitten des mit Gehirnaufschwemmung des Hündchens subdural inokulierten Igels. Das beweist also, daß zwischen Virus und Einschlüssen keinerlei Beziehung besteht, oder, besser gesagt, daß die Einschlüsse nicht als parasitäre Formen zu bewerten sind.

Die Gehirnaufschwemmung des 2. an Staupe erkrankten Hundes wurde 4 Igeln in die Schädelhöhle eingespritzt. Von diesen ist der 1. nach 6, der 2. nach 11, der 3. nach 12 und der 4. nach 20 Tagen verendet. In den Schnitten des Gehirns und der anderen Organe dieser 4 Igel wurden keine Einschlüsse angetroffen. 2 andere, mit Gehirnsubstanzaufschwemmung des nach 11 Tagen verendeten Igels ins Gehirn inokulierte Igel verendeten 9 und 10 Tage nachher. In ihren Nervenzellen waren keine Einschlußkörperchen aufzufinden.

Die Gehirnaufschwemmung des 4. Hundes erhielten 2 Igel subdural eingespritzt; der 1. verendete nach 3, der 2. nach 17 Tagen. Eine Darmlymphdrüsenaufschwemmung wurde einem anderen Igel ins Gehirn eingespritzt; er war nach 6 Tagen zugrunde gegangen.

In den Gehirnschnitten des nach 3 Tagen verendeten Igels wurden Einschlußkörperchen vorgefunden (Taf. III, Fig. 21), die so groß waren, wie die Kernkörperchenmassen und in nicht unbedeutender Anzahl vorhanden waren. Einige dieser Einschlußkörperchen wiesen winzige Vakuolen auf. In einigen, keine Einschlußkörperchen darbietenden Nervenzellelementen wurden etwas vergrößerte Kernkörperchenmassen und kleine, rote Körperchen im Kernkörper sichtbar (Taf. III, Fig. 24). Die Anfangsformen der Einschlüsse stellen sowohl im Gehirn der mit Staupevirus inokulierten Igel, wie auch im Gehirn der mit Wutvirus injizierten kleine Körperchen dar, die so groß sind wie die Kernkörperchen. Daraus geht hervor, daß diese kleinen Einschlußkörperchen nicht von der Teilung der vermuteten Sporulationen herrühren, die sich in den wenige Tage nach der Einspritzung zugrunde gegangenen Igeln überhaupt nie vor-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

finden. Ebensowenig kann man annehmen, daß alle diese kleinen Einschlußkörperchen mit der äußerst kleinen Menge der Aufschwemmung, die zur Uebertragung der Krankheit verwandt worden ist, eingespritzt worden sein können.

In den Gehirnschnitten des nach 17 Tagen verendeten Igels wurden zahlreiche Einschlüsse angetroffen, die den bei dem nach 23 Tagen verendeten Igel aufgefundenen ähneln. Kleine Einschlußkörperchen konnten auch in den Ependymzellen nachgewiesen werden (Taf. II, Fig. 17).

In den Gehirnschnitten des mit einer Darmlymphdrüsenaufschwemmung inokulierten Igels waren keine Einschlußkörperchen vorhanden.

Die Gehirnaufschwemmung des 6., an Staupe verendeten Hundes wurde 2 Igeln ins Gehirn eingespritzt; der 1. verendete nach 4, der 2. nach 15 Tagen. In den Gehirnschnitten des 1. Igels ließen sich keine Einschlußkörperchen nachweisen, wohl aber in den Schnitten des 2.; diese letzteren waren in großer Zahl vorhanden und ähnelten den bei den anderen Igeln beschriebenen. Neben vollständig normalen Nervenzellen wurden andere Zellen aufgefunden, die bemerkenswerte Kernveränderungen aufweisen. Einige dieser Kerne besitzen deutliche Umrisse (Taf. I, Fig. 10—11; Taf. III, Fig. 25) und im Innern rot gefärbte, verschieden große und mehr oder weniger zahlreiche Körperchen. Zuweilen werden zwischen den rot gefärbten Körnchen auch einige blau gefärbte wahrgenommen. Andere Zellen (Taf. I, Fig. 7, 9; Taf. III, Fig. 26) zeigen einen umrißlosen, aus rot gefärbten, verschieden großen und mehr oder weniger zahlreichen Körnchen bestehenden Kern. Diese Kernveränderungen erinnern an jene Veränderungen, die von einigen Beobachtern im Gehirn der an Vogelpest zugrunde gegangenen Tiere (Schiffmann-Ottolenghi) und von anderen Forschern im Gehirn der an fixem Virus verendeten Kaninchen (Lentz) angetroffen worden sind.

Auf Grund der vorstehenden Untersuchungen und Betrachtungen komme ich zu folgenden Schlüssen:

1) Die Einschlüsse können, außer im Zentralnervensystem, in den Lungen und der Bindehaut, auch in anderen Organen der an Staupe zugrunde gegangenen Hunde angetroffen werden.

2) In bezug auf die Form unterscheidet man regelmäßige (rundliche oder ovale) und unregelmäßige Einschlüsse (von sehr verschiedener Gestalt); in bezug auf die Struktur kann man zwischen homogenen und Einschlüssen mit vakuolenartigen Innengebilden unterscheiden.

3) Die Einschlüsse können nicht als Protozoen aufgefaßt werden, da sie nukleären oder cytoplasmatischen Ursprungs sind.

4) Mittels Verimpfung des Staupevirus in Igel können Einschlüsse erzeugt werden.

5) Die großen Formunterschiede, welche die Einschlüsse ganz unabhängig von ihrem Ursprung in den Geweben zeigen, sprechen gegen ihre parasitäre Natur.

Modena, Juli 1914.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Literatur.

Carré, Bull. et Mém. de la Soc. centr. de Méd. vét. 1905.
Lentz, Ueber die spezifischen Veränderungen an den Ganglienzellen wut- und staupekranker Tiere. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 62. 1909.)
Lignières, Contribution à l'étude et à la classification des septicémies hémorrhagiques. Buenos Ayres 1900.
Galli-Valerio, Der gegenwärtige Stand unserer Kenntnisse von der Aetiologie der Hundestaupe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 41. 1908.)
Manouélian, Étude des corpuscules de Negri et des formations spéciales à la rage à virus fixe. (Ann. de l'Instit. Pasteur. T. 26. p. 973.)
Sanfelice, Ueber einige nach der Mannschen Methode färbbare und Parasiten vortäuschende Gebilde kernigen Ursprungs bei einer Hauterkrankung des Discoglossus pictus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70. 1913.)
—, Untersuchungen über das Epithelioma contagiosum der Taube. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 76. 1913.)
Sinigaglia, Osservazioni sul cimurro. (Pathologica. Vol. 9. 1911.)

Erklärung der Abbildungen.

Tafel I.

Alle Figuren sind mit Hilfe des Okul. 3, Obj. $^1/_{12}$ Immersion Zeiss gezeichnet. Die Schnitte sind nach Mann gefärbt.

Fig. 1. Lungenschnitt eines staupekranken Hundes. In den Cytoplasmen der die Luftröhrenverzweigungen auskleidenden Epithelzellen wird eine Fülle von Einschlüssen wahrgenommen, deren einige vakuoläre Innengebilde besitzen. Die Einschlüsse sind zahlreicher in dem der Lichtung der Bronchien zu gelegenen Teil der Cytoplasmen als in dem basalen Teil.

Fig. 2 u. 4. Lungenschnitt eines an Staupe erkrankten Hundes. In den Cytoplasmen zweier alveolärer Zellen werden verschieden große Einschlüsse ohne Innengebilde beobachtet.

Fig. 3. Nickhautschnitt eines von der Staupe erfaßten Hundes. In den Cytoplasmen der adnexen Drüsenzellen werden viele Einschlüsse wahrgenommen, deren einige eine regelmäßige, rundliche oder ovale Gestalt, mit oder ohne vakuolenartige Innengebilde besitzen, während andere unregelmäßige Form mit oder ohne Innengebilde aufweisen. Mehrere Einschlüsse sind von einem hellen Hofe umgeben.

Fig. 5. Schnitt einer zum Darm gehörenden Lymphdrüse eines an Staupe erkrankten Hundes. In den Cytoplasmen der lymphoiden Elemente erblickt man zahlreiche, teils Innengebilde, teils keine solchen enthaltende, meist von einem hellen Hof umgebene, rundliche, ovale, oder unregelmäßig gestaltete, sehr verschieden große Einschlüsse.

Fig. 6. Schnitt der Bauchspeicheldrüse eines staupekranken Hundes. In den Cytoplasmen der Pankreaszellen sind regelmäßig und unregelmäßig geformte Einschlüsse mit und ohne vakuoläre Innengebilde wahrzunehmen, die gewöhnlich von einem Hofe umgeben sind.

Fig. 7, 9, 10, 11. Gehirnschnitt eines infolge intrakranieller Inokulation der Gehirnmasse eines staupekranken Hundes zugrunde gegangenen Igels. Die Nervenzellen des Ammonshorns, deren Kerne aus Anhäufungen verschieden großer Körnchen gebildet, zum größten Teil rot, nur in geringer Zahl blau gefärbt sind. In einigen dieser Zellen kann die Kernwandung unterschieden werden, in anderen nicht. In einer der abgebildeten Nervenzellen ist ein runder Einschluß sichtbar.

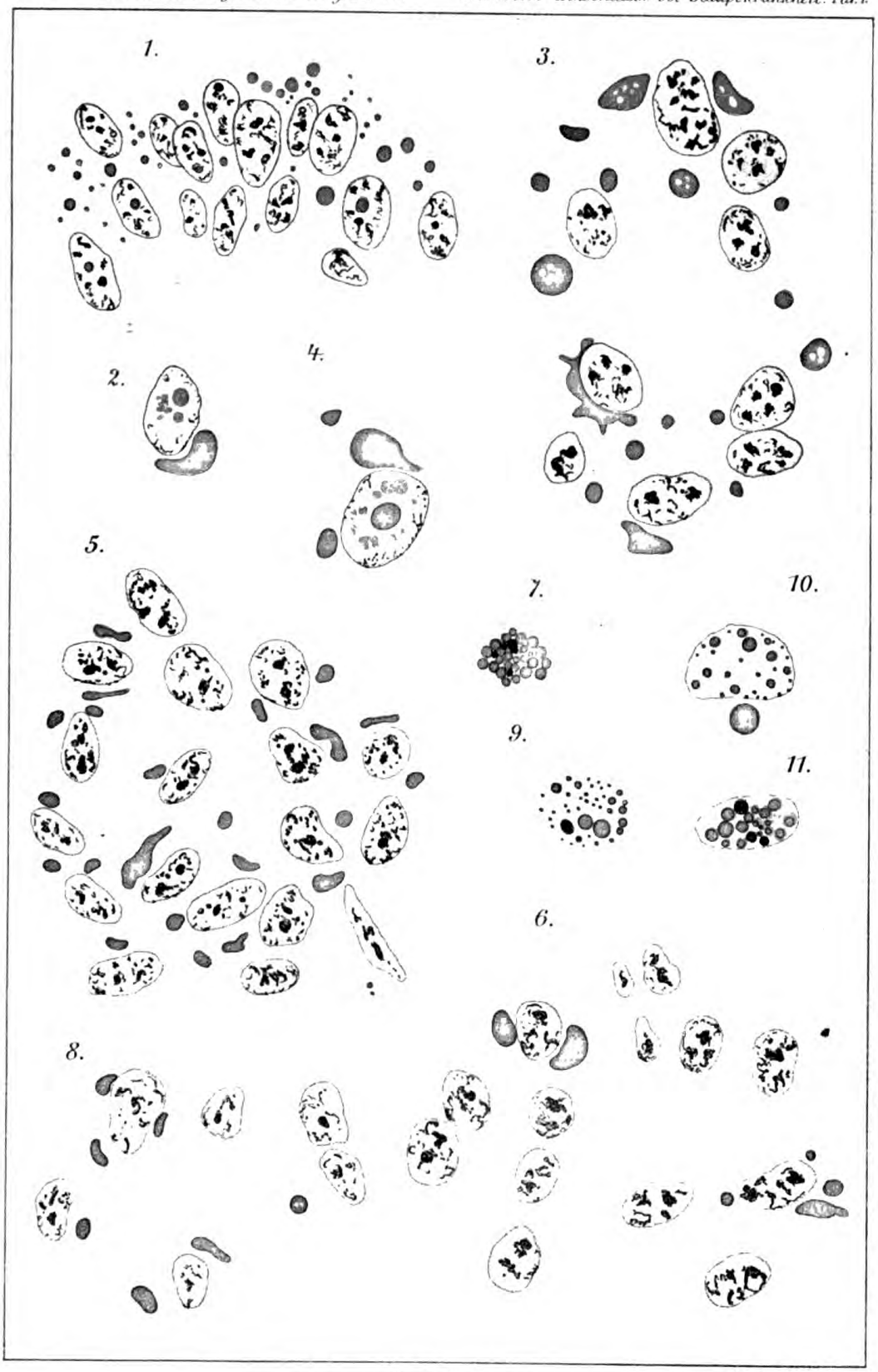
Fig. 8. Kleinhirnschnitt eines an Staupe erkrankten Hundes. Gruppen von Neurogliazellen, in denen im Cytoplasma und freiliegend mehrere regelmäßige und unregelmäßige Einschlüsse mit und ohne Innengebilde wahrzunehmen sind.

Tafel II.

Fig. 12. Schnitt von der Lunge eines staupekranken Hundes. In den Cytoplasmen der alveolären Zellen sind unregelmäßig geformte Einschlüsse mit deutlichen Rändern und zahlreichen, verschieden großen Innengebilden zu sehen, die Vakuolen ähneln. Im Zentrum einiger vakuolenartiger Gebilde ein äußerst kleines Körnchen.

Fig. 13. Schnitt des Deckepithels der Bindehaut eines an Staupe erkrankten Hundes. In den Cytoplasmen der Epithelzellen viele Einschlußkörperchen, von denen einige typisch rund oder oval sind, vakuoläre Innengebilde besitzen oder auch nicht, andere dagegen atypisch sind, Netzform besitzen oder wie verzweigte Stäbchen aussehen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:19 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Verlag von Gustav Fischer in Jena. P. Weise lith. Inst.

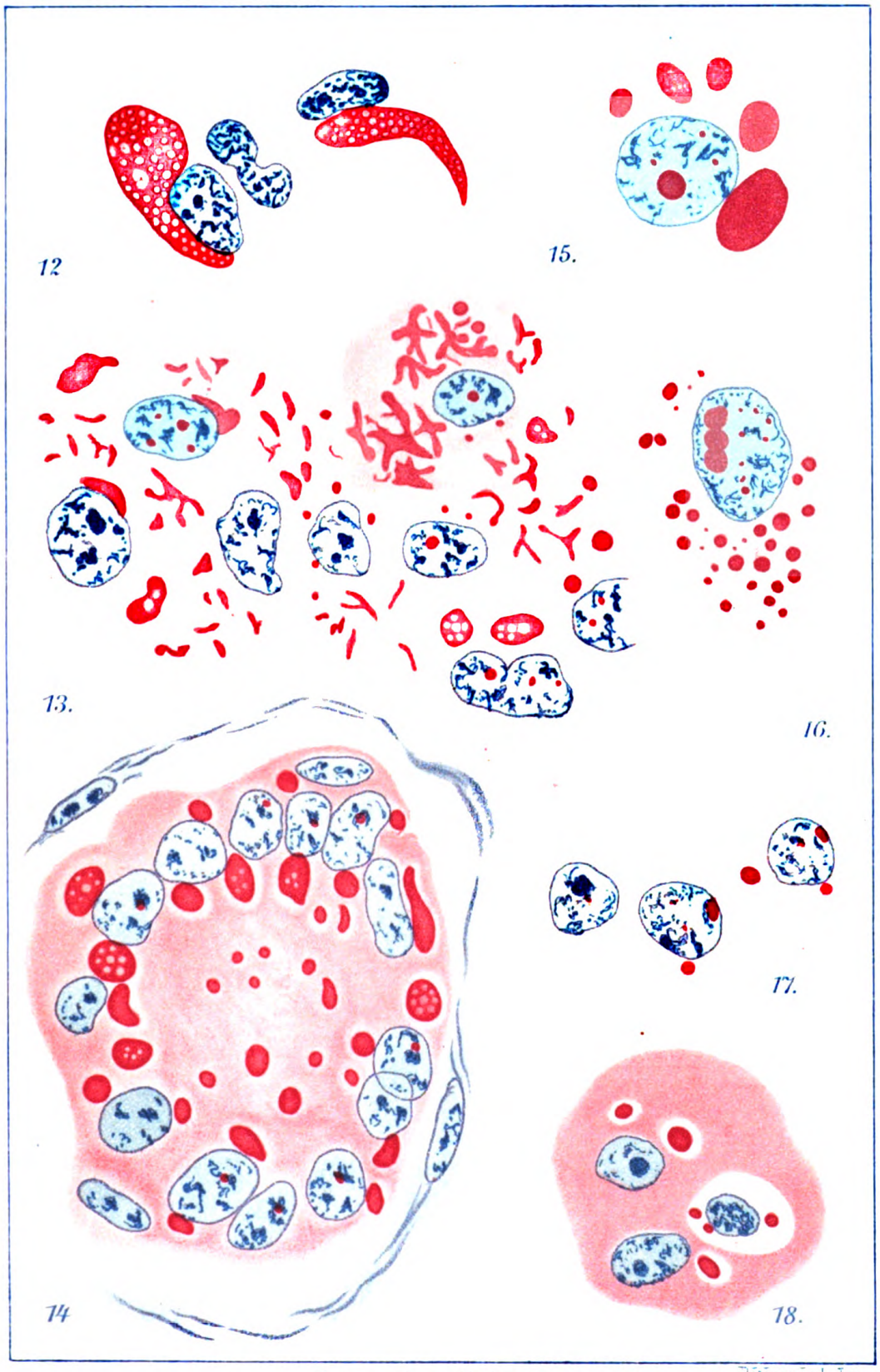
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

Generated on 2019-09-15 16:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weise, Lith. Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

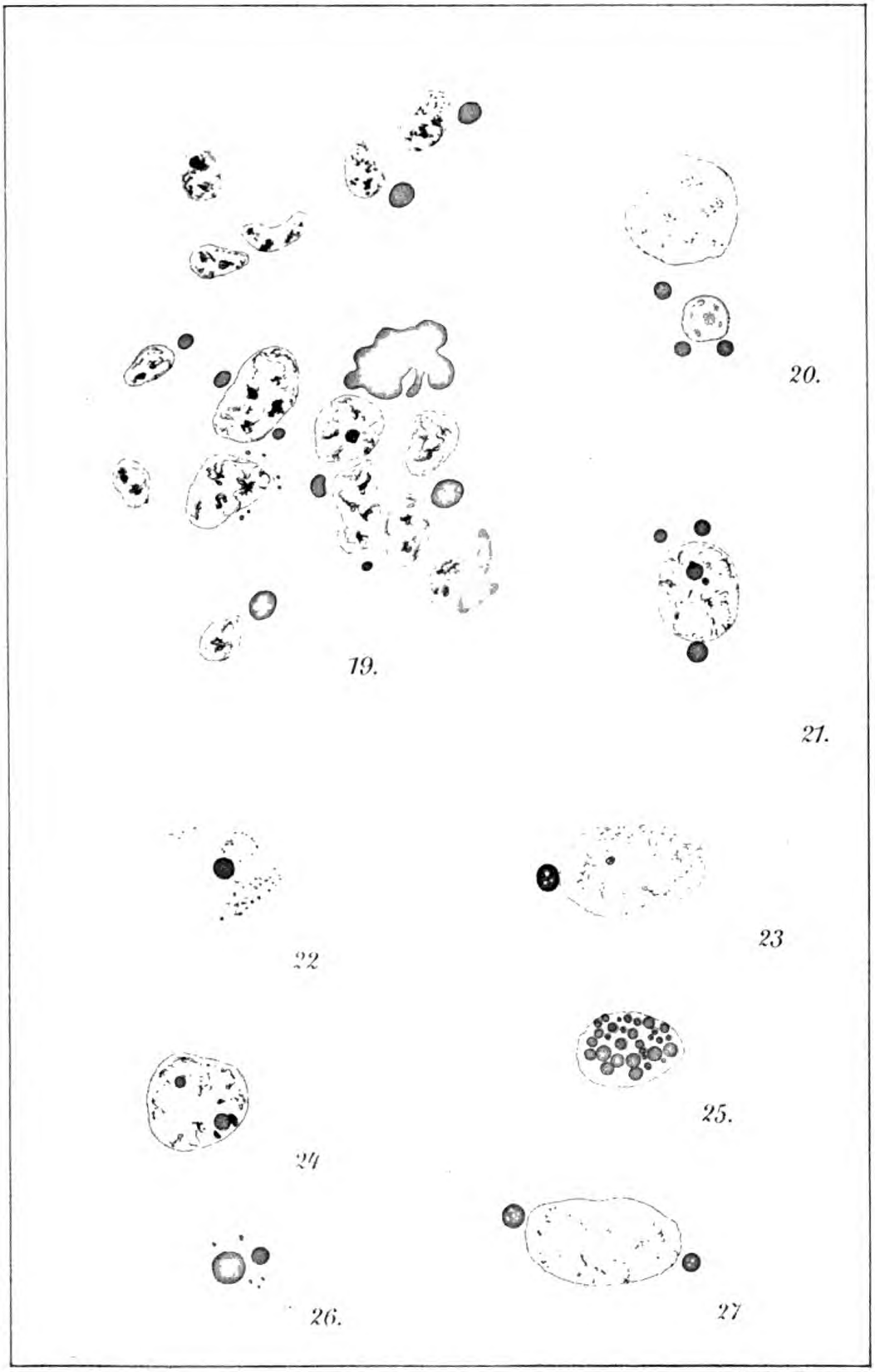
UNIVERSITY OF ILLINOIS LIBRARY

1 0 1910

Generated on 2019-09-15 16:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN



Verlag von Gustav Fischer in Jena. P. Weise Lith. Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

UNIVERSITY OF ILLINOIS LIBRARY

JAN 10 1916

Generated on 2019-09-15 16:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Fig. 14. Darmschnitt eines an Staupe erkrankten Hundes. In den Cytoplasmen der Epithelzellen viele, größenteils regelmäßige Einschlüsse mit und ohne Innengebilde, die von einem hellen Hof umgeben sein können oder nicht.

Fig. 15. Kleinhirnschnitt eines an Staupe erkrankten Hundes. Im Cytoplasma einer Purkinjeschen Zelle 5 verschieden große, regelmäßig geformte, homogene Einschlußkörperchen ohne Innengebilde.

Fig. 16. Kleinhirnschnitt eines staupekranken Hundes. Im Cytoplasma einer Purkinjeschen Zelle viele homogene, regelmäßig gestaltete Einschlußkörperchen. Im Innern des Kerns rote Körnungen verschiedener Form.

Fig. 17. Gehirnschnitt eines nach intrakranieller Einspritzung der Gehirnaufschwemmung eines an der Staupe zugrunde gegangenen Hundes verendeten Igels. Es finden sich Ependymzellen vor, in deren Cytoplasmen kleine, homogene Einschlußkörperchen wahrzunehmen sind.

Fig. 18. Schnitt der Nasenschleimhaut eines staupekranken Hundes. In den Cytoplasmen der Epithelzellen regelmäßig gestaltete Einschlüsse mit oder ohne Innengebilde, die von einem hellen Hof umgeben sind.

Tafel III.

Fig. 19. Lungenschnitt eines an Staupe erkrankten Hundes. Zahlreiche Einschlüsse in den alveolären Zellen, von denen ein Teil regelmäßige Form besitzt, während die übrigen unregelmäßige Gestalt aufweisen; Innengebilde finden sich bei den einen, bei den anderen fehlen sie, auch ist der helle Hof nicht immer vorhanden.

Fig. 20, 22, 23, 27. Gehirnschnitte eines Igels, der infolge intrakranieller Verimpfung einer Gehirnaufschwemmung zugrunde gegangen ist, die einem an Staupe verendeten Hund entstammte. Entstehung der Einschlüsse in den Nervenzellen des Ammonshorns. Einige der Einschlüsse sind homogen, andere lassen Innengebilde erkennen. Der Ursprung der Einschlüsse von den Kernkörperchenmassen geht daraus deutlich hervor.

Fig. 21, 24. Gehirnschnitt eines Igels, der an einer intrakraniellen Einspritzung zugrunde gegangen war, zu der das Gehirn eines an Staupe verendeten Hundes verwandt worden ist. Entstehung der Einschlußkörperchen aus den Kernkörperchenmassen.

Fig. 25, 26. Gehirnschnitt eines Igels, der an einer intrakraniellen Inokulation zugrunde gegangen ist, zu der die Gehirnaufschwemmung eines an der Staupe verendeten Hundes verwandt wurde. Es lassen sich da Nervenzellen des Ammonshorns auffinden, die Kerne zeigen, welche aus verschieden großen Anhäufungen von durch Eosin rot gefärbten Körnchen bestehen.

Nachdruck verboten.

Parasitologische Untersuchungen und parasitologische Technik.

[Hygienisch-parasitologisches Institut der Universität Lausanne.]

Von **B. Galli-Valerio.**

A. Parasitologische Untersuchungen.

I. Geographische Verbreitung einiger Parasiten.

1) Saccharomyces guttulatus Robin. Mustela martes (Darm). Carnate 1200 m (Vältlin). 31. März 1914. Galli. Die Zellen waren denjenigen, die ich bei S. vulgaris beschrieben habe, sehr ähnlich [1]).

2) Pelomyxa palustris Greef. Anodonta anatina L. (Darm). Genfersee. Januar 1915. Galli. Wahrscheinlich nur Pseudoschmarotzer.

3) Ctenotaenia Goezei Baird. Lepus cuniculus (Darm). Elsaß. 14. März 1908. Narbel.

---

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1914. p. 46.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

4) Oxyuris ambigua Rud. Idem und L. domesticus. Lausanne. März 1914. Galli.

5) Trichocephalus unguiculatus Rud. Lepus timidus (Darm). Orbe. 23. Febr. 1914. Galli.

6) Laelaps agilis Koch. Arvicola arvalis. Lausanne. Oktober 1899. Mus sylvaticus. Hechtsberg (Schwarzwald). September 1899. M. musculus. Lausanne. Nov. 1905. Galli.

7) Belaustium murorum Herm. Talpa europaea. Orbe. November 1908. Galli.

8) Anopheles maculipennis Meig. Mensch. Atlite (Galilée, Palestin). 30. April 1914. Yoffé.

9) Chironomus annularis Deg. ♂ (Class. Bezzi). Hamburg. 30. Mai 1914. Galli. Diese Mücken waren sehr verbreitet in der Nähe des Zentralbahnhofs. Sie flogen in Schwärmen und drangen in Augen, Mund, Nase und Ohren, ohne aber zu stechen. Sie waren eine wahre Plage.

10) Xenopsylla cheopis Rotsch. Ratten. Soerabaya (Java). Steiner. Von 33 Flöheexemplaren waren alle von dieser Art.

11) Menopon pallescens N. Perdix cinerea. Triasso (Vältlin). 1913. Al. Polatti.

12) Menopon parvulum Piaget. Cypselus apus. Lausanne. Juli 1912. Galli.

13) Lyctocoris campestris Fabr. Pferd. Orbe. 1914. Galli. Er war mit Pferdeblut ganz gefüllt. Nach Blanchard[1]) hatte Reuter bemerkt, daß diese Art von Menschenblut lebt.

II. Bakteriologische Untersuchungen.

a) Untersuchungen über Actinomyceten.

1) Cladothrix und Streptothrix in Lungenkrankheiten. In vielen Fällen, wo man im Auswurfe diese Pilze bemerkt hat, wurden sie als Ursache der Krankheit betrachtet. Nach meinen Untersuchungen bin ich jedoch gezwungen, mitzuteilen, daß man in einigen Fällen Leptothrix mit diesem Pilze verwechselt hat; in anderen finden sie sich im Auswurf, ohne aber die Ursache der Krankheit zu sein. So hatte man z. B. bei einem 18 Jahre alten Kranken Aktinomykose diagnostiziert und bemerkt, daß KJ keine Wirkung auf die Krankheit hatte. Im Pleuraexsudate und im Auswurfe dieses Kranken habe ich in der Tat kleine, grüngelbe, sandkornartige Drusen bemerkt, die den Actinomyces-Drusen sehr ähnlich waren. Aber sie waren sehr weich und zeigten mikroskopisch weder Keulen noch Verzweigungen, sondern nur segmentierte Fäden. Kulturen und Impfungen an Meerschweinchen haben keine Resultate ergeben. Diese Drusen waren ganz gleich denjenigen von Leptothrix buccalis und noch mehr denjenigen von L. pleuriticus, die bei Hunden Rivolta[2]), Piana und Galli-Valerio[3]) beschrieben haben.

Bei einer Patientin hatte man eine Cladothrix-Lungenkrankheit diagnostiziert und sie ohne Erfolg mit großen Dosen von KJ behandelt. In der Tat habe ich selbst im Auswurf Fäden mit Pseudoverzweigungen, aber keine Tuberkelbacillen bemerkt, doch sind Meerschweinchen, die

1) Arch. de parasit. T. 5. 1902. p. 139.
2) Giorn. di anat. fisiol. pat. 1884. p. 190.
3) Moderno Zooiatro. 1896. No. 6.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mit diesem Auswurf geimpft worden waren, an Tuberkulose zugrunde gegangen.

Streptothrix und wahrscheinlich auch Cladothrix sind sehr verbreitet und können sich auch im Auswurfe finden, ohne jedoch die Krankheitsursache zu sein.

2) Ein Fall von Tuberkulose bei Cercopithecus fuliginosus Geoffroy.

Bei einem C. fuliginosus, der an Tuberkulose der Lungen, des Herzens, der Leber und der Muskeln gestorben war, habe ich in den Verletzungen zwei Typen von Tuberkelbacillen gefunden: Die einen waren sehr dünn, lang und körnig, dem Typus humanus sehr ähnlich, die anderen sehr dick, kurz und gleichförmig gefärbt, dem Typus bovinus sehr ähnlich. Impfungen haben folgende Resultate gegeben: 2 Meerschweinchen, von denen das eine unter die Haut, das andere auf die rasierte Haut geimpft waren, sind nach 39 Tagen zugrunde gegangen, und zwar das erstere mit verbreiteter Tuberkulose, das zweite nur mit einer lokalen Verletzung und etwas vergrößerten Mesenterialdrüsen. Bei beiden Meerschweinchen fanden sich Bacillen des Typus humanus.

Ein Kaninchen, unter die Haut geimpft, ist erst nach 1 Jahre an Tuberkulose der Lungen, Pleura und Nieren gestorben. In den Verletzungen und im Harne fanden sich Bacillen vom Typus bovinus. Ein zweites Kaninchen, das mit diesen Bacillen geimpft worden war, ist nach 2 Monaten gestorben mit Verletzungen auch in der Milz und der Leber. Die Bacillen waren immer vom Typus bovinus. Eine Mus rattus, die an der Schwanzwurzel geimpft war, ist nach $1^1/_2$ Monaten gestorben. Sie zeigte nur ein Geschwür an der Impfstelle und Vergrößerung der Milz. Nur in dem Geschwüre waren Tuberkelbacillen vorhanden, und zwar vom Typus humanus.

Die morphologischen Merkmale der Bacillen und die Resultate der Impfungen sprechen also für eine Mischinfektion bei diesem Cercopithecus.

3) Untersuchungen über experimentelle Tuberkulose bei Mus rattus.

Aoki[1]), der viele Untersuchungen über experimentelle Tuberkulose der Ratten gemacht hat, hat wahrscheinlich nur mit weißen Ratten gearbeitet, die nur intraperitoneal und intravenös geimpft worden waren. Ich habe mit Mus rattus (wilder schwarzer Ratte) experimentiert und habe bisher 6 Ratten geimpft, und zwar wurde No. 1 mit 1 ccm tuberkulösen Auswurfs unter die Schenkelhaut geimpft; sie ist nach 21 Tagen an Lungen- und Pleuraentzündung zugrunde gegangen, aber in den Verletzungen waren nur Pneumokokken vorhanden. No. 2 habe ich schon in den Untersuchungen über die Cercopithecus-Tuberkulose zitiert. No. 3 war mit 1 ccm einer Emulsion von Kaninchentuberkulose (Typus bovinus) unter die Schenkelhaut geimpft; es starb nach 5 Monaten und zeigte Entzündung der rechten Lunge mit vielen weißen Tuberkeln von der Größe eines Hirsekorns. Die Tuberkelbacillen waren sehr zahlreich in den Tuberkeln, und zwar gleichförmig gefärbt, in kleinen Haufen.

Mit einer Tuberkelemulsion dieser Ratte habe ich 2 andere Mus rattus unter die Schenkelhaut geimpft. Die eine ist nach 2 Monaten

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 75. 1913. p. 62.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gestorben, aber ohne tuberkulöse Veränderungen und ohne Tuberkelbacillen, die andere nach $3^1/_2$ Monaten mit starker Entzündung der linken Lunge und Tuberkeln und Vergrößerung der Milz. Die Tuberkeln waren sehr reich an Tuberkelbacillen, die, gleichförmig gefärbt, einige auch granuliert, einzeln oder in kleinen Häufchen lagen. In Milz und Leber waren keine Bacillen vorhanden.

Die anderen geimpften Ratten haben nichts ergeben. Mus rattus scheint also relativ widerstandsfähig gegen Tuberkulose zu sein. Wie Aoki für die weißen Ratten schon bemerkt hat, sind die Veränderungen nur an den Lungen vorhanden.

4) Untersuchungen über die Vernichtung von Leprabacillen in dem Auge von Kaninchen.

Bei einem Kaninchen, das mit Nasalsekret eines Leprösen in die Vorderkammer des Auges geimpft worden war, habe ich in dem Panophthalmitiseiter folgendes gefunden: Nach 10 Tagen noch viele sehr gut gefärbte und schon sehr körnige, extracelluläre Leprabacillen. Nach 24 Tagen nur noch spärliche Bacillen, einige in Leukocyten, und sehr zahlreiche extracelluläre Granula. Nach 30 Tagen waren die Bacillen ganz verschwunden, und es fanden sich nur spärliche intra- und extracelluläre Granula. Es scheint also, daß in diesem Falle die Leprabacillen im allgemeinen extracellulär bakteriolysiert worden sind.

5) Corynebacterium pseudodiphtheriticum bei einer Frauenmastitis.

Am 9. Nov. 1914 bekam ich von dem Prof. der Chirurgie, C. Roux, ein Stück von der Brust einer Frau, die an Mastitis litt. Die Schnitte zeigten eine körnige, Tapioca-ähnliche Oberfläche, aber ohne Eiter. Die mikroskopischen Untersuchungen zeigten kleine, isolierte, oder zu 2—3 vereinigte Bacillen, die mit Karbolfuchsin und nach Gram sich sehr gut färbten. Diese Bacillen waren biscuit- oder keulenförmig, sehr oft granuliert, dem C. diphtheriae sehr ähnlich, aber etwas dicker. In Schnitten waren sie zwischen den Epithelzellen der Acini gelagert. Ich konnte sehr leicht diese Bacillen aërobisch, nicht aber anaërobisch züchten. Das Temperaturoptimum war 36—37°, aber auch bei 20° konnte man eine Entwickelung haben. Die Charaktere der Kulturen waren folgende:

Gelatinestichkultur: Oberfläche sehr kleine, weißliche Kolonieen; im Stichkanal sehr geringes Wachstum. Keine Verflüssigung.

Agar: Strich, Kolonieen von 1 mill. Diam., weißlich, rund, im Zentrum erhaben. Stich: An der Oberfläche Kolonie von 2 mill. Diam., weißlich, mit etwas zerrissenem Rand, mit erhabenem, etwas kegeligen Zentrum, im Stichkanal undulierte Linie.

Glyzerin-Glykose-Agar: Wie auf Agar.

Erstarrtes Pferdeserum: Wie auf Agarstrich.

Bouillon: Getrübt, ohne Häutchenbildung, aber mit staubig-körnigen Massen an der Glaswand, dann weißliche Flocken am Boden.

Milch: Gute Vermehrung ohne Gerinnung.

Kartoffeln und Mohrrüben: Weißlicher Schleier, sehr wenig entwickelt.

Kein Geruch; Bouillon wird sehr wenig alkalisch, keine Vergärung des Milch- und Traubenzuckers; keine Veränderung von Neutralrot; in Seitz-Nährboden sehr geringe Bläuung; kein Indol.

In allen Kulturen sind die Bacillen biscuit- und besonders keulenförmig, einzeln oder zu 2, wie V und L, oder in kleinen Haufen. Auf

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kartoffeln und Mohrrüben viele kurze Formen. Sie sind absolut unbeweglich. Mit Neisser gefärbt, zeigen sie nur spärliche Granula.

Impfungen unter die Haut von Kaninchen und in den Pectoralis einer Taube waren erfolglos.

Nach Impfungen unter die Haut und intraperitoneal bei Meerschweinchen starben diese Tiere nach 21, 31 und 37 Tagen bei starker Abmagerung, Hämorrhagie an der Impfstelle, Hyperämie der Nieren und Nebennieren, Oedem und Hyperämie der Hirnhäute und des Gehirns. Bacillen waren nicht mehr vorhanden.

Das beschriebene Bakterium gehört ohne Zweifel zur Gruppe Corynebacterium und steht dem C. diphtheriae sehr nahe, unterscheidet sich aber von diesem durch 1) die größeren Keulen, 2) die mehr entwickelten Kolonieen, 3) die vereinzelten Granula, 4) den Mangel an Glykosegärung und an Säurebildung, 5) die geringe Virulenz.

Es muß daher als C. pseudodiphtheriticum (Loeffler) L. et N. betrachtet werden. Da aber De Simoni, der viele Pseudodiphtheriebakterien studiert hat[1]), bei keinem nach Unterhautimpfung eine Virulenz für Meerschweinchen bemerkt hat, muß die Varietät, die ich untersucht habe, in der Nähe der wenig virulenten Diphtheriebacillen ihren Platz finden. Das beweist immer mehr, daß in der Gruppe der Pseudodiphtheriebacillen sehr zahlreiche Rassen vorkommen, und daß einige von diesen dem C. diphtheriae sehr nahestehen.

Hat nun dieses Bakterium wirklich eine Rolle bei der Mastitis gespielt? Es ist dies wahrscheinlich, weil es als das einzige Bakterium in den Verletzungen und in den Acinis lokalisiert war. Nach Ablatio der Brust ist die Patientin ganz genesen.

III. Protozoenuntersuchungen.

1) Zelleinschlüsse bei Menschen-Psoriasis.

Lipschütz[2]) hat in Psoriasisausstrichen nach Loeffler färbbare, $^1/_4$ μ große, rote bis mattrote, scharf konturierte Körperchen, die teilweise hantelförmige Teilungsformen zeigten, beschrieben. v. Prowazek[3]) hat neben den Lipschütz-Körperchen in einem Falle auch Spirochäten gesehen. Ich habe in einem Falle von Psoriasis in den Epithelzellen runde Körperchen von 1,5—2 μ beobachtet, die, nach Giemsa und Brahm gefärbt, eine rotblaue Färbung annahmen, und von denen einige von einem blassen Hofe umgeben waren. Impfung auf weiße Ratten war erfolglos.

2) Untersuchungen von Ausstrichen und Schnitten von Trachom aus Soerabaya.

Die Präparate habe ich von Herrn Dr. Steiner bekommen. Die Ausstriche habe ich mit Giemsa und Brahm 1:20 12 Stunden färben lassen. In diesen Präparaten habe ich neben mit Trachomkörperchen gefüllten Zellen Streptokokken und das Mycelium eines sehr verzweigten Hyphomyceten bemerkt. In Schnitten waren nur die Trachomkörperchen vorhanden, also waren die Streptokokken und Hyphomyceten nur oberflächliche, akzidentelle Nebenparasiten.

3) Meningo-myelitis cerebrospinalis bei Coccidiasis der Kaninchen.

---

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 26. 1899. p. 673.
2) Wien. med. Wochenschr. 1910. No. 26. (Zit. nach v. Prowazek.)
3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 62. 1912. p. 134.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei jungen Kaninchen, die an Coccidiasis intestinalis zugrunde gehen, bemerkt man sehr oft neben den allgemeinen Symptomen der Coccidiasis konvulsive und paralytische Erscheinungen. Die Obduktion zeigt bei diesen Kaninchen starke Darminfektion mit Eimeria Stiedai, keine Veränderungen in der Leber, Hyperämie der Meninx und Oedem und Hyperämie des Gehirns und des Rückenmarks. Kulturen aus Gehirn und Rückenmark geben keine Resultate, und auch in den Schnitten sind keine Keime vorhanden. Aber in mit Alaunkarmin gefärbten Schnitten habe ich folgendes bemerkt: Die Pia mater ist mit Rundzellen infiltriert; in Gehirn und Rückenmark sind die Gefäße erweitert und ganz mit roten Blutkörperchen gefüllt. Zum Teil sind die Gefäße von einer rundzelligen Infiltration umgeben. Neben Hyperämieen und Infiltraten sind auch kleine Hämorrhagieen vorhanden. Diese Veränderungen sind in den Vorderhörnern des Rückenmarks stärker und erinnern sehr an diejenigen, die ich bei der Hundestaupe[1]), Flexner und Clark bei einer Paralysis des Hundes[2]), Wickman[3]) und Flexner[4]) bei Poliomyelitis der Kinder beschrieben haben.

Die Ursachen dieser Meningo-Myelitis der Kaninchen sind, sehr wahrscheinlich, in den toxischen Produkten der Coccidien zu suchen.

4) Ueber Spirochaetiasis bronchialis.

Anwesenheit von Spirochäten im Auswurf ist schon von verschiedenen Untersuchern beobachtet worden, aber Castellani[5]) erst hat diese Spirochäten als pathogen unter dem Namen Spirochaeta bronchialis beschrieben. Chalmers und O'Farrell[6]) haben im Sudan die Untersuchungen von Castellani bestätigt und behaupten die Existenz einer Spirochaetiasis bronchialis. Ich selbst habe schon 5mal im Auswurf von an Bronchitis leidenden Menschen sehr zahlreiche Spirochäten bemerkt. Die Fälle stammten aus den Kantonen Waadt und Wallis. Wie Fantham[7]), habe auch ich 2 Typen gesehen, deren einer kurz, dicker, dunkel färbbar, der andere länger, dünn und blaß färbbar ist. Sie färben sich sehr gut mit 1 Tropfen Karbolfuchsin + 1 Tropfen Wasser mit Thymolblau, mit Giemsa und mit Leishman. Auch mit Tusche und Kollargol kann man sie sehr gut sehen. In keinem der 5 Fälle waren Tuberkelbacillen vorhanden. Unglücklicherweise habe ich selbst die Kranken nicht untersuchen können, so daß es mir unmöglich ist, zu sagen, ob die Spirochäten wirklich eine Rolle bei der Bronchitis gespielt haben oder nicht. Es wäre sehr interessant, ähnliche Fälle klinisch zu untersuchen.

IV. Helminthologische Untersuchungen.

1) Mißbildung bei Taenia saginata Goeze.

Bei einem Exemplar von T. saginata fand sich eine schräg fixierte Proglottide von 2 cm × 12 mm, die ganz mit Eiern gefüllt war.

2) Ist Ascaris lumbricoides L. ein Blutsauger?

Schimmelpfennig[1]) hat rötlich aussehende Exemplare von

1) Moderno Zooiatro. 1893. No. 12.
2) Studies from the Rockefeller Inst. Vol. 18. 1914. p. 272.
3) Die akute Poliomyelitis. Berlin 1911.
4) International Clinics. Vol. 1. Twenty second series.
5) Lancet. 1906. p. 1384.
6) Journ. of trop. Med. 1913. Nov. 1.
7) Centralbl. f. Bakt. Abt. I Ref. Bd. 62. 1914. p. 531.
1) Inaug.-Diss. Bern 1902. (Zit. nach Dobernecker.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

A. equi als Blutsauger betrachtet. Dobernecker[1]) hat die Leibeshöhlenflüssigkeit von weiblichen A. lumbricoides-Exemplaren, die ein rötliches Aussehen hatten, durch das Spektroskop untersucht und die typischen Streifen des Blutfarbstoffes der Wirbeltiere erkannt. Ich habe ein ♀ von A. lumbricoides, das ein rötliches Aussehen hatte, untersucht und eine starke Blaufärbung von Benzidinpapier bemerkt nebst Kristallen von Hämochromogen. Dies spricht daher für die Ansicht, daß A. lumbricoides ein Blutsauger sei.

3) Zur Bekämpfung von Limnaea truncatula.

Wie bekannt, ist L. truncatula der Zwischenwirt von F. hepatica, und es ist daher sehr wichtig, Mittel zu finden, um sie zu vernichten. Ich hatte nun im letzten Sommer Gelegenheit, zu bemerken, daß in einer Pfütze Exemplare von Aulastoma gulo sich auf Limnäen fixierten und an der Schale der Molluske saugten. Zwei A. gulo habe ich in ein Aquarium mit L. truncatula gesetzt; in sehr kurzer Zeit entleerten sie 5 Limnäen. Es wäre daher vielleicht nützlich, A. gulo in den Gegenden, wo die Distomatiasis herrscht, zu verbreiten.

V. Untersuchungen über Arthropoden.

1) Jucken bei Menschen, verursacht durch Glyciphagen.

Im Oktober erhielt ich von Aigle (Kt. Waadt) Stroh und Heu, das bei Soldaten sehr starkes Jucken verursachte. Wanzen und Läuse waren nicht vorhanden, aber anstatt dieser bemerkte man Acariden aus der Gattung Glyciphagus. Hering und Murray haben schon die Krätze der Gewürzhändler (grocer's itch) mit diesen Acariden in Verbindung gebracht, und bei Alpinisten, die auf Heu mit Glyciphagen geschlafen hatten, habe ich selbst das Jucken bemerkt.

2) Krätze bei Kaninchen durch Sarcoptes minor Fürst und Psoroptes communis Fürst.

Bei einem Kaninchen von Sierre (Kt. Wallis) habe ich neben einer starken Krätze des äußeren Gehörganges durch P. communis starke Krätze der Lippen und Finger durch S. minor, mit P. communis gemischt, beobachtet. Bis jetzt wurde P. communis bei Kaninchen nur im äußeren Gehörgange gefunden.

3) Widerstand einiger Arthropoden dem Fasten gegenüber.

Eine Nymphe von Ixodes ricinus hat 2 Monate nur von Wasser und etwas Zucker gelebt.

Von 150 Argas persicus sind 13 nach 8, 136 nach $11^1/_2$, 1 nach 13, 9 nach $16^1/_2$, 1 nach $20^1/_2$ und 2 nach $22^1/_2$ Monaten, nachdem sie an Hühnern gesaugt hatten, zugrunde gegangen.

Pediculus cervicalis, in Probiergläser gesetzt, sind nach 12 Stunden bei 36° und nach 3 Tagen bei 20° gestorben. In den ganz abgeschnittenen Haaren einer Frau, die in einen Behälter bei 20° gebracht worden waren, sind einige nach 6 Tagen zugrunde gegangen.

B. Parasitologische Technik.

1) Ueber Färbung der Döhlschen Leukocyteneinschlüsse.

Schmierpräparate von Blut wurden mit Methylalkohol fixiert und dann mit Thymol und Karbolblau, Karbolthionin, Pappenheim,

1) Inaug.-Diss. Bern. Leipzig 1912.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Manson-Blau, Azur Michaelis, v. Wahl, Giemsa und Leishman gefärbt. Mit Leishman habe ich keine guten Resultate gehabt, mit Thymol und Karbolblau, Pappenheim, Giemsa (1:20) 6 Stunden waren diese besser, aber die Körperchen zu blaß. Mit Karbolthionin und v. Wahl (6 Stunden) gute Färbung, aber sehr oft zu viel Niederschlag. Die besten Resultate habe ich mit Manson-Blau und Azur Michaelis, 6 Tropfen in 100 Tropfen Wasser, 14—22—28 Stunden, gehabt. In einigen Fällen färbt Manson-Blau das Protoplasma der Leukocyten zu stark. Ich kann die Untersuchungen von Rehder[1]) nicht bestätigen, daß man die besten Resultate erzielt, wenn man nur 3—5—10 Minuten färbt. Ich finde, daß in dieser Zeit die Leukocyten zu blaß sind, mit feinen, protoplasmatischen Granula, die die Döhlschen Körperchen maskieren. Dagegen sind nach 14—22—28 Stunden die Leukocyten gleichförmig gefärbt und die Körperchen sehr deutlich. Diese Körperchen sind sehr verschieden an Größe und Gestalt, aber Spirochäten-ähnliche Gebilde habe ich nie bemerkt. In Fällen von Scharlach, die ich untersucht habe, waren diese Körperchen reicher am 3.—4. Tage der Krankheit, aber nach dem 6. Tage waren sie nicht mehr zu finden, was übereinstimmt mit den Untersuchungen von Nicoll[2]).

2) Ueber Verwendung von Tierkörpermehl als Bakteriennährboden.

Burchardt[3]) hat mit Tierkörpermehl, Bouillon und Agar präpariert und sehr gute Resultate bei Bakterienkulturen erzielt. Zur Gewinnung dieser Nährböden habe ich folgende Technik angewendet:

Stammlösung A.: Tierkörpermehl 400 g, Aq. dest. 1200 g. Erhitzen nach guter Mischung 45 Minuten auf 100°. Absetzen lassen 5 Minuten. Filtrieren. Das Filtrat mit Zusatz von Aq. dest. muß auf 1000 g gebracht werden.

Bouillon: Stammlösung A 100 g, Aq. dest. 100 g, Pept. sicc. 1 g, Kochsalz 0,5 g. Abkochen, Neutralisieren, Filtrierenlassen.

Agar: Man setzt 2 Proz. Agar der Bouillon zu und präpariert wie gewöhnlichen Agar.

Auf diesen Nährböden habe ich die folgenden Bakterien gut gezüchtet: V. cholerae, Bac. anthracis, Bact. coli, B. typhi, B. pestis, B. pseudopestis, B. pneumoniae, B. vulgare, B. pyocyaneum, Strept. pyogenes, M. pyogenes, M. tetragenus, M. melitensis. Für die Züchtung von Anaëroben habe ich zur Bouillon etwas Tierkörpermehl zugesetzt, im Autoklaven zu $1^1/_2$ Atm. $1^1/_2$ Stunde sterilisiert und sofort nach Abkühlung besät. Mit dieser Methode konnte ich. B. tetani, B. oedematis maligni, B. Chauveaui, B. botulinus züchten und B. tetani und B. oedematis maligni vom Boden isolieren.

Die mit Tierkörpermehl bereiteten Nährböden sind also für die Laboratorien sehr zu empfehlen.

Lausanne, 6. Februar 1915.

1) Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 117. 1914. p. 37.
2) Collect. Stud. from the Bureau of Laborat. Dep. of Health City of New York. Vol. 7. 1912—1913. p. 331.
3) Inaug.-Diss. Bern. Berlin 1910.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Notices helminthologiques.

Par le Dr. **N. Leon,**
Prof. à l'Université de Jassy, Laboratorul de istorie nat. med. si parasitologie.

Avec 4 figures.

Sur un Bothriocéphale large dièdre.

La monstruosité double résultant de la fusion plus ou moins complète de deux individus est assez rare et ne se rencontre guère que chez les Ténias.

Cette monstruosité n'a été observée chez les Bothriocéphales jusqu'à présent que deux fois: d'après Railliet, Pittard a signalé, sur un Bothriocéphale conservé dans un musée de Londres, une disposition qui rappelle celle des Ténias trièdres; d'après Moniez, v. Linstow a observé des Both. tectus très nettement triquètres, chez lesquels les orifices génitaux n'étaient pas modifiés dans leur situation.

Le Bothriocéphale, qui fait l'objet de notre cas, a été évacué il y a huit ans par un de nos anciens élèves, aujourd'hui docteur en médecine. Le malade n'avait guère présenté les symptômes qui se rapportent à la présence des Bothriocéphales dans l'intestin. La tête du ver est absente, ainsi que beaucoup d'anneaux. La partie de chaîne expulsée mesurait 47 cm. dont la majorité des anneaux étaient mûrs et quelques anneaux intercalaires, mais nous n'avons pas des anneaux les plus jeunes.

La portion de chaîne est formée par deux Bothriocéphales soudés par un de leurs bords, de sorte que en section transversale elle a la forme d'un V dont les deux branches sont à peu près égales (fig. 2). La ligne de soudure forme un bourrelet (fig. 1 et 2 *A*). Les orifices sexuels se distribuent d'une manière régulière pour chaque segment d'un côté et de l'autre du bourrelet. Cette malformation se complique par l'intercalation d'anneaux surnuméraires.

Notre Bothriocéphale ayant séjourné très longtemps dans de l'alcool faible, les tissus ont subi depuis huit ans, des altérations considérables. Cependant on peut reconnaître que la structure histologique d'un anneau dièdre se rapproche tout à fait de celle d'un proglottis normal.

Sur une coupe transversale, on trouve, de dehors en dedans: 1) la cuticule, 2) la zone souscuticulaire granuleuse, 3) le tissu conjonctif à mailles fines et denses qui forme la masse de l'anneau, 4) les fibres musculaires longitudinales et transversales.

Les deux branches divergentes du V (fig. 2 *B* et *C*) ont leurs parenchymes séparés par les fibres musculaires tranversales en deux zones: la zone corticale (*D* fig. 2) et la zone centrale (*E* fig. 2).

Dans la zone corticale sont disposées les fibres musculaires longitudinales (*d* fig. 2) peu serrées et toujours parallèles aux faces de l'anneau dièdre. Entre ces fibres et la sous-cuticule sont situés les vitellogènes (*i* fig. 2).

Dans un anneau normal ces glandes sont répandues sur les deux champs latéraux de l'anneau tandis que dans notre exemplaire quoiqu'il soit formé de la fusion sur le bord de deux Bothriocéphales il n'existe

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

cependant que deux champs latéraux au lieu de quatre, parce que deux d'entre eux se sont fusionnés et ont formé le bourrelet.

Dans le bourrelet (*A* fig. 2) on trouve toutes les parties décrites plus haut: la cuticule, la zone granuleuse cellulaire, le tissu conjonctif, les vitellogènes, les fibres musculaires longitudinales, les follicules testiculaires et les fibres musculaires transversales qui sont toutes très serrées

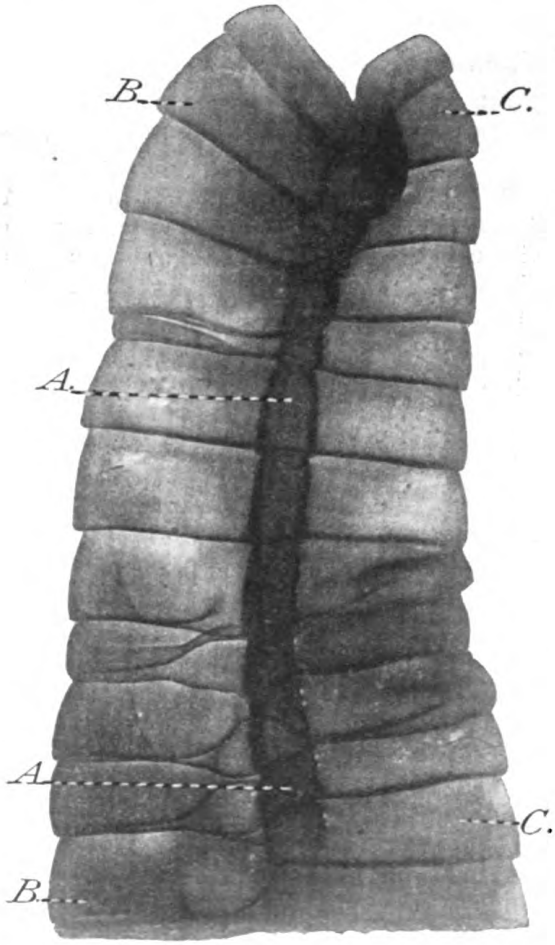


Fig. 1.

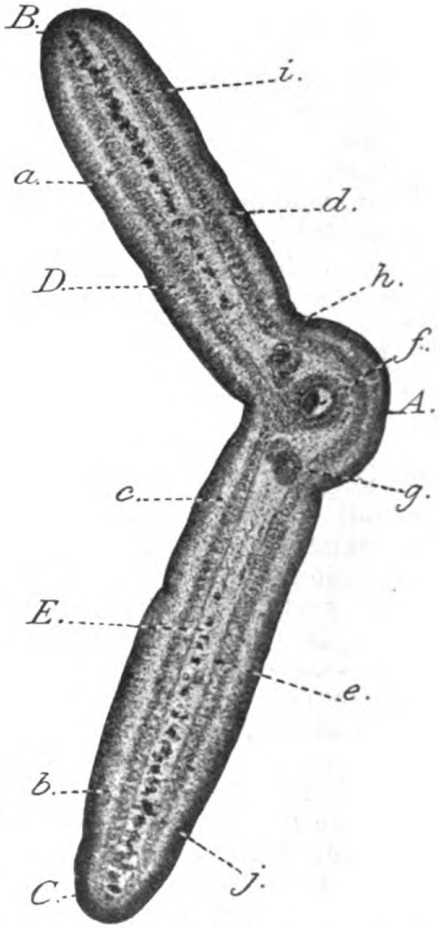


Fig. 2.

Fig. 1. Fragment de la chaîne du Bothriocéphale dièdre. *A* crête (bourrelet); *B* lame 2; *C* lame 3.

Fig. 2. Coupe transversale d'un anneau de Bothriocephalus latus dièdre. *A* crête (bourrelet); *B* lame 2; *C* lame 3; *D* zone corticale; *E* zone centrale; *a* cuticule; *b* zone souscuticulaire; *c* zone conjonctive; *d* fibres musculaires longitudinales; *e* fibres musculaires transversales; *f* lacune longitudinale; *g* ramifications utérines; *h* pores génitaux; *i* glandes vitellogènes; *j* testicules.

Toutes ces parties se rangent autour d'un canal longitudinal (*f* fig. 2) qui est le canal aquifère provenant du fusionnement des deux canaux aquifères latéraux.

La zone centrale est occupée dans les champs latéraux de l'anneau par les follicules testiculaires, entre elles et le bourrelet se trouvent les autres organes de reproduction (*g* fig. 2). Les organes de reproduction se répètent par deux pour chaque anneau par un sinus dans lequel dé-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bouchent l'un devant l'autre le canal déférent et le vagin et en arrière un orifice communiquant avec le fond de l'utérus.

Si les organes sexuels et les œufs arrivés à la maturité ne laissaient pas voir qu'ils sont de Bothriocéphales on pourrait croire un moment que le ver que l'on a devant soi appartient à un type anatomique non encore signalé chez l'homme.

En ce qui concerne les deux faces par lesquelles se sont soudées les deux Cestoïdes pour produire le monstre dièdre il est beaucoup plus facile d'indiquer chez le Bothriocéphale que chez le Ténia, à cause que la face ventrale chez le Bothriocéphale se distingue de la dorsale parce qu'elle présente sur elle les pores génitaux.

Si les Bothriocéphales n'étaient pas soudés par leurs faces ventrales les orifices génitaux se trouveraient situés à l'intérieur de l'angle dièdre tandis qu'ils se trouvent situés sur la face externe de l'angle dièdre comme dans notre cas, ce qui prouve que les Bothriocéphales qui ont produit le monstre dièdre se sont soudés par leurs faces dorsales.

Sur la fénestration des Cestoïdes.

Chaque fois que j'ai trouvé des anneaux de Bothriocéphales perforés les perforations occupaient la région de la rosette de l'utérus et aucune perforation n'occupait une position plus à droite ou plus à gauche de l'utérus.

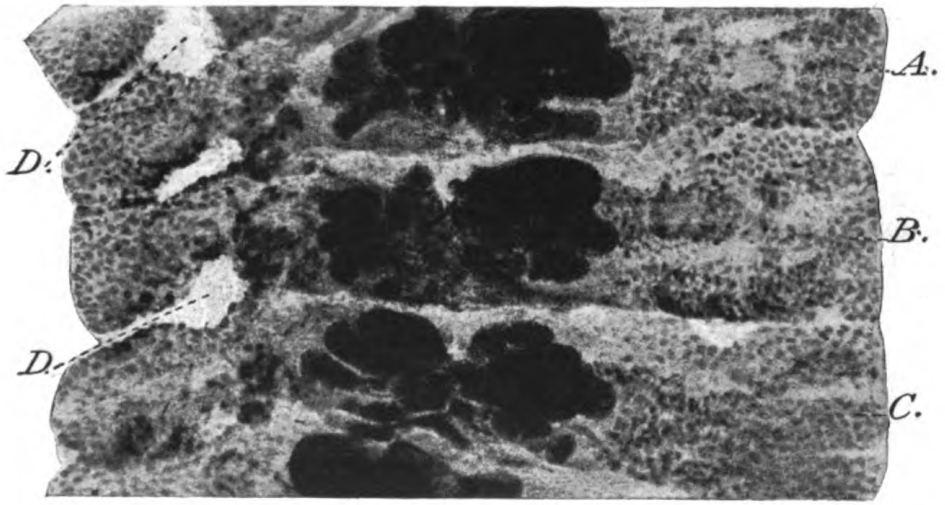


Fig. 3. Fragment de la chaîne du Bothriocéphalus latus fénestré. Trois anneaux *A*, *B*, *C*. — *D* les fénestrations latérales.

En un cas spécial que j'ai décrit dans le „Zool. Anzeiger“ [1]) j'ai constaté qu'il n'existe de ruptures de la cuticule qu'au milieu de la rosette de l'utérus et jamais autour. Ces faits m'ont fait croire que la fénestration chez les Bothriocéphales est causée par le développement par trop exagéré de l'utérus; la cuticule qui le recouvre s'étend de plus en plus jusqu'à ce qu'elle se déchire.

Cette explication m'a paru d'autant plus vraisemblable que chez les autres Cestoïdes chez lesquels l'utérus est double pour chaque segment

1) Leon, N., Sur la fénestration du Bothriocephalus latus. (Zool. Anzeig. Bd. 32. 1907. No. 8.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

comme chez le Dipylidium[1]) les perforations sont doubles et occupent aussi les bords au lieu d'occuper le centre des anneaux.

Chez les Hymenolepis[2]) où l'utérus occupe une grande partie du proglottis j'ai trouvé les fénestrations situées de manière constante à l'endroit où se trouve la partie initiale de l'utérus.

Sur un fragment de Bothriocephalus latus de 15. cm environ, évacué cette année par un femme de 45 ans, j'ai constaté des perforations marginales comme dans la microphotographie fig. 3*D*.

Ayant examiné le ver à la loupe dans toute sa longueur et des deux côtés j'ai constaté de petits dépôts graisseux qui se sont formés dans la couche souscuticulaire justement comme Danysz les a décrits chez le Taenia saginata: „elles ont soulevé un peu la cuticule qui a été ainsi séparée de la substance qui l'alimente. De là, probablement, une nécrose progressive de la cuticule dans ces points, et finalement sa destruction complète suivie d'un épanchement et de la digestion de la substance graisseuse d'abord, et des autres tissus du ver ensuite, jusqu'à une perforation complète de l'anneau."

Ce cas nous fait confirmer de nouveau l'opinion que nous avons émise en 1907 que la perforation des anneaux des Cestoïdes peut se faire de deux façons:

1. Par le développement exagéré de l'utérus qui déchire les parois de l'anneau comme dans nos cas des deux Bothriocéphales de 1907, les cas du Dipylidium de 1909, et les cas du Hymenolepis de 1909.

2. Par la dégénérescence graisseuse qui déchire la cuticule comme dans le cas du Taenia saginata décrit par Danysz en 1888 et dans les cas de notre Bothriocéphale de 1915 (fig. 3).

Bothriocephalus parvus Stephens, 1908.

Ce ver n'a été vu jusqu'ici que par Stephens en 1908, c'est lui qui a créé cette espèce. Il n'a eu que 3 fragments de chaîne qui ont été expulsés par un Syrien habitant depuis peu l'Australie.

Le deuxième exemplaire trouvé a été celui qui fait l'objet de la présente note, evacué par une juive de Jassy, âgée de 45 ans.

Fig. 4. Fragment de la chaîne du Bothriocephalus parvus.

Il a été expulsé avec un Bothriocéphale large, long de 4 m. La tête et le cou de notre exemplaire manquaient, la strobile est longue d'environ 20 cm; les derniers segments qui sont les plus larges ont une largeur de 5 mm. et les segments les plus étroits en ont une de seulement 2 mm. Mais la totalité des anneaux présente la rosette de l'utérus complètement développée et pleine d'œufs. Pour mettre en évidence les différences entre la strobile du Bothriocéphale large et celle de Bothriocephalus parvus j'ai photographié un fragment de chaîne du Bothriocephalus parvus (fig. 4) avec le même objectif avec lequel j'ai photographié le fragment de Bothriocéphale large (fig. 3).

Notre exemplaire se distingue de celui de Stephens par ce qu'il présente de nombreux corpuscules calcaires.

1) Leon, N., Ueber eine Mißbildung von Dipylidium caninum. (Zool. Anzeig. Bd. 34. 1909. No. 5.)

2) Leon, N., Ueber eine Mißbildung von Hymenolepis. (Zool. Anzeig. Bd. 34. 1909. No. 20/21.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Biologie von Pediculus vestimenti.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten (Direktor: Obermedizinalrat Prof. Dr. Nocht).]

Von **H. Sikora.**

Die Angaben, die sich über die Biologie der Läuse vorfinden, sind sehr spärlich und zum Teil auch ungenau. Nun, da man in dem so wenig beachteten und selten untersuchten Parasiten den Ueberträger des Flecktyphus erkannte, dürften einige ergänzende Beobachtungen über die Lebensweise dieses Tieres willkommen sein.

Im folgenden will ich daher kurz über eine große Anzahl von Versuchen berichten, die ich zwecks Aufklärung einer Reihe fraglicher Punkte in der Biologie der Kleiderlaus unternommen habe. Ich habe mich bemüht, möglichst natürliche Verhältnisse nachzuahmen, wie aus der hier angeführten Versuchstechnik zu ersehen ist. In einer späteren ausführlichen Arbeit werde ich vor allem auf die Anatomie und Physiologie eingehen.

Technik der Aufzucht.

Die Läuse wurden in numerierte, mit Watte verschlossene Glashülsen gesetzt, die ich tagsüber bei ca. 24°, durch eine Schachtel vor Unfällen geschützt, in der inneren Jackentasche trug. Des Nachts hielt ich die Schachtel bei ca. 35° im Arm. Eine größere Anzahl Hülsen scheint mir so immer noch bequemer untergebracht, als wenn man sie in einer Art Gürtel oder dergleichen bei sich trägt.

Zur Fütterung wurden die Tierchen zweimal täglich, um $^1/_2$10 vormittags und um $^1/_2$8 Uhr abends, auf Handrücken und Vorderarm gesetzt. Die jungen Läuse sind, wie schon Warburton bemerkte, geneigt, vor dem Anbeißen lange Spaziergänge auf der Haut des Wirtes zu unternehmen. Da man frisch ausgekrochene Läuse (die nur 1 mm lang und $^2/_5$ mm breit sind) und hungrige junge Tiere ohne dunklen Mageninhalt auf der Haut nur schwer erkennen kann, und daher einzelne nur zu leicht aus dem Gesicht verliert, ist es zweckmäßig, die Futterstelle mit einem Fettring zu umziehen. Die Tiere, die sich bis an diese Umrahmung verirren und an ihr kleben bleiben, braucht man nicht verloren zu geben. Ich beobachtete zweimal, daß Läuse nach der 1. Häutung in die durch die Hautwärme halbflüssig gewordene Vaselineumrahmung hineingerieten, wo sie vom Fett gänzlich bedeckt waren. Herausgefischt und auf die trockene Haut gesetzt, krochen sie weiter, wobei ein großer Teil des Fettes abgestreift wurde. Die fettig glänzenden Tiere sogen einige Minuten später, als ob nichts vorgefallen wäre; 12 Stunden später befanden sie sich immer noch vollkommen wohl. Dies steht im Widerspruch zu der allgemeinen Annahme, daß ein eingefettetes kleines Insekt durch Verschluß der Tracheenöffnungen nicht mehr atmen könne und zugrunde gehe. Anfangs ließ ich die jungen Läuse auf kleinen viereckigen Stoffstückchen sitzen, die ich bei der Fütterung einfach auf die Haut legte. Dies erwies sich aber als unzweckmäßig, weil einzelne Tiere, besonders auf der oberen Seite des Stoffes, sitzen bleiben, ohne zu saugen. Da ich, um eine unnatürliche Verzögerung der Entwickelung

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zu vermeiden, auf gleichmäßige Fütterung aller Tiere Wert legte, und das Ueberspringen einer der beiden täglichen Fütterungen das Leben einer warmgehaltenen Laus ernstlich gefährdet, mußten diese Läuse, sobald die anderen fertiggesogen hatten, mit den untergeschobenen Pinzettenspitzen durch hebelnde Bewegungen vom Stoff getrennt und auf die Haut gesetzt werden. Am bequemsten ist es, die Läuse auf 1 cm langen Fasern eines groben weichen Stoffes zu halten; zur Fütterung legt man die Stoffasern einzeln auf die Haut und kann nun, ohne die gutwillig saugenden allzusehr zu stören, diejenigen Tiere, die, in eine Art Halbschlaf versunken, die Freßgelegenheit unbenützt vorbeigehen lassen wollen, mit der Pinzettenspitze so lange anrempeln, bis sie lebhaft werden und zur Haut hinuntersteigen. Erwachsene Läuse hält man am besten auf 2 cm langen Büscheln von Menschenhaar; sie sitzen gern darauf und können auch leicht mit der Pinzette von ihrem Sitzplatz weggehoben werden. Wenn man das Haarbüschel auf einer dunklen Unterlage ausbreitet, kann man die Eier mühelos erkennen und samt den Haaren, an denen sie kleben, heraussuchen; die Kleiderläuse befestigen ihre Eier nämlich sehr gern am Menschenhaar, worauf schon A. Brauer aufmerksam machte, und zwar befestigen sie dieselben in genau derselben Weise am Haarschaft, wie die Kopfläuse.

Diese Art der Aufzucht ist außerordentlich zeitraubend.

Später hielt ich die Läuse in 2 cm langen Glasröhren, die ich durch Absprengen des oberen Teiles gewöhnlicher Hülsen herstellte, und die unten mit Müllergaze von 0,7 mm Maschenweite zugebunden und oben mit einem Wattepfropf verschlossen waren. Zur Fütterung wurden diese Röhren der Reihe nach in ein passend durchlöchertes Holzstück geschoben und das Ganze mit dem Müllergazeende nach unten fest auf den Vorderarm geschnallt. Diese Vorrichtung verhinderte die Läuse am Entweichen und ermöglichte mir, während der Fütterung herumzugehen, zu mikroskopieren usw., ohne die Läuse beim Saugen allzusehr zu stören. Nach der Fütterung wurden die Röhrchen aus dem Holz herausgezogen und in einem kleinen Präparatglas in die Tasche gesteckt. Im Anfang befürchtete ich, daß die Läuse ihre Eier auf die Müllergaze legen würden, was beim täglichen Absuchen der Eier Schwierigkeiten gemacht hätte. Die Abneigung der Kleiderläuse gegen Seide ist aber so groß, daß ich unter vielen Tieren ein einziges fand, das ein oder zwei Eier auf den Seidenfäden befestigte; sonst sind die Weibchen in der Wahl des Legeortes durchaus nicht wählerisch, fand ich doch einmal eine männliche Kleiderlaus, der auf dem rechten Mittelbein ein Ei angekittet worden war.

Später konstruierte ich einen Behälter für Schweineläuse, den man permanent am Arm herumtragen kann. Er besteht aus 2 Holzrahmen (außen 3 : 6 cm, innen 2 : $3^1/_2$ cm). Die Unterseite ist in der Längsrichtung etwas ausgehöhlt, um sich dem Arm dichter anzulegen; darunter ist ein Stück dicken weichen Stoffes gleichfalls mit einer Oeffnung 2 : $3^1/_2$ cm geklebt. Ueber diese Stoffunterlage ist ein Stück Tüll gespannt, damit beim Anschnallen des Behälters keine Laus zerquetscht wird, und auch, um die Läuse am Entkommen zu hindern, falls die Riemen sich verschieben sollten. Nach oben wird der Behälter geschlossen, indem man ein Stück grobmaschiger Müllergaze darauflegt und den zweiten, etwas dünneren, am ersten durch ein Scharnier befestigten Holzrahmen darüber zuklappt und mit einem Häkchen zuschließt. Das Ganze wird unter den linken Aermel geschoben und samt diesem mit 2 Riemen am

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Vorderarm festgeschnallt. Ueber Nacht ist es gut, über Arm und Behälter einen kurzen Aermelabschnitt aus einem dicken weichen Stoff zu ziehen und ihn mit festzuschnallen, denn dann verschiebt sich das Ganze nicht so leicht. Wenn man den Erbstüll des Bodens mit Müllergaze von 0,7 mm Maschenweite vertauschen würde, könnte dieser Apparat auch für Menschenläuse verwendet werden.

Leider ist es mir nicht gelungen, ganz junge Läuse durch Müllergaze stechen zu lassen; der Kopf der jungen Läuse ist verhältnismäßig viel größer als der der Erwachsenen, und da die Tierchen nur dann saugen, wenn sie den ganzen Kopf, und nicht bloß das Vorderende des Kopfes durch die Stofflücken stecken können, müßte man sie in so weitmaschigen Gazebeuteln halten, daß sie allzu leicht entkommen könnten. Von erwachsenen Läusen ist dies nicht zu befürchten bei Müllergaze, die 12 Löcher auf den Zentimeter aufweist, bei einer Lochgröße von 0,7 mm.

Um junge Läuse unter fast ganz natürlichen Verhältnissen halten zu können [1]), befestigt man einen großen (4 cm langen) Hühneraugenring mit der geleimten Fläche nach unten mittels Mastisol oder dergleichen auf dem Arm und klebt darüber eine Verschlußplatte mit Leukoplast fest, die zur Hälfte aus entsprechend feinmaschiger Müllergaze, zur Hälfte aus Glas oder besser aus Glimmer besteht. Das Ganze ist durch einen Aermel mit Gummizügen vor Unfällen zu schützen. Der Hühneraugenring scheint mir viel zweckmäßiger und bequemer als die Stoffzelle von Zupnik. Ich werde die unten mitgeteilten Zahlen mit Hilfe dieser den natürlichen Verhältnissen genauer entsprechenden Versuchsanordnung nochmals nachprüfen.

Entwickelung der jungen Laus bis zur Imago.

Die Läuse hinterlassen beim Auskriechen eine provisorische Haut in der Eihülle. Außerdem müssen sie noch 3 Häutungen durchmachen, ehe sie fortpflanzungsfähig werden. Erst nach der 3. Häutung sind die Geschlechter äußerlich zu unterscheiden [2]).

Versuch 1. Die Läuse der ersten Versuchsreihe häuteten sich bei Tag 24°, nachts 35° und 2 Fütterungen täglich:

zum ersten	Mal	nach	5	Tagen	(einige	nach	6	Tagen),
„ zweiten	„	„	9	„	(„	„	11	„),
„ dritten	„	„	13	„	(„	„	15	„).

Ich konnte einmal eine erste Häutung im Mikroskop beobachten. Das Tier sah bräunlichgelb aus und war wenig beweglich. Einige Zeit danach fand ich die Laus auf dem Rücken liegend; ihre Haut sah nun hell und runzelig aus, offenbar war sie am Rücken schon aufgeplatzt. Die Laus hielt den Kopf auf die Brust geneigt und pumpte sich mit den Mundteilen Luft in den Magen. Dann erschien hinter und über dem Kopf zuerst das eine, dann das zweite gehäutete Vorderbein, die

1) Ich versuchte die Läuseeier unter einem auf die Haut geklebten Gläschen zur Entwickelung zu bringen, aber es kondensierte sich zuviel Wasserdampf an der Innenseite des Glases, obwohl es durch eine mehrfach um den Arm herumgewickelte Mullbinde vor Abkühlung tunlichst geschützt war.

2) Schon mit freiem Auge kann man die ♀ daran erkennen, daß sie größer und breiter sind und ihr Abdomen in 2 Spitzen ausläuft. Die ♂ sind schlanker und kleiner, ihr Abdomen ist, von oben gesehen, abgerundet, von der Seite gesehen, läuft es in eine nach oben gebogene Spitze aus. Von der Unterseite sieht man die Basis dieser Chitinspitze braun durch das Integument durchscheinen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Klauen der beiden Füße wurden gegen die Schnauze gestemmt, und gleich darauf fiel die Vorderkopfhaut, an deren Innenseite die abgestoßene Chitinauskleidung der vorderen Saugpumpenabteilung und die 6 Chitinteile des Stechapparates hängen, wie eine Maske nach vorn gegen die Brust, und der gehäutete Kopf wurde in seine natürliche Lage zurückgebogen. Die Pumpenbewegungen hatten aufgehört. Dann wurde das 2. und bald darauf das 3. Beinpaar aus der Haut gezogen. Die befreiten Beine vollführten streifende Bewegungen, durch die die Haut bald bis ans Ende des Hinterleibes befördert war, von dem sie schließlich abfiel. Die ganze Häutung kann höchstens 5 Minuten gedauert haben, vom Erscheinen des 1. Beinpaares bis zum Abstreifen der Haut bis an die Hinterleibspitze vergingen 2 Minuten. $^3/_4$ Stunde danach begann das Tier Blut zu saugen; in seinem Magen, an der Grenze zwischen Thorax und Abdomen, war die eingepumpte Luftblase deutlich zu sehen; mit zunehmender Füllung des Magens rückte sie allmählich bis an dessen hinteres Ende, wo sie durch den Mageninhalt weiterer Beobachtung entzogen wurde, doch ist an der Ausscheidung der Luft durch den Darm kaum zu zweifeln.

Versuch 2. Die Temperatur in der inneren Jackentasche ist eine verhältnismäßig niedrige, besonders während der unvermeidlichen, wenn auch nur kurzen Aufenthalte im Freien. Auch kann die nur 2malige Fütterung per Tag nicht als den natürlichen Verhältnissen entsprechend angesehen werden. Da beides einen verzögernden Einfluß auf die Entwickelung der Läuse haben mußte, machte ich einen Versuch, die natürlichen Verhältnisse genauer nachzuahmen, indem ich die Glashülse mit 11 jungen Läusen in einem um den Hals gehängten Leinwandbeutel direkt auf der Haut trug; in seinem Innern maß ich 35°. Die Läuschen wurden so oft gefüttert, als sie gutwillig fressen wollten, und das war 6mal am Tage. Freilich ließ sich der Fehler einer zu langen futterlosen Nachtpause wiederum nicht ganz vermeiden; ich kürzte sie auf $8^1/_2$ Stunden ab, indem ich morgens schon um $^1/_2$7 Uhr, und abends zuletzt um $^1/_2$11 Uhr fütterte. Am Morgen waren aber im Magen der jungen Läuse fast keine Nahrungsreste mehr zu sehen. Auch stiegen die Tiere mit einer Hast von den Stoffasern auf die Haut herunter, die deutlich verriet, daß sie sich in der Freiheit schon längst zu einer Mahlzeit verholfen gehabt hätten. Wenn also die Verhältnisse, unter denen ich diese Tiere hielt, immer noch etwas weniger günstig waren, als die natürlichen, so entwickelten sich diese Läuse doch viel schneller als die im 1. Versuch. Eines der Tiere war schon nach 8 Tagen erwachsen!

1. Häutung nach 3 Tagen,
2. „ „ **5** „ (einige erst nach 6 Tagen),
3. „ „ **8** „ (die meisten innerhalb von 9 × 24 Stunden).

Daß die Verzögerung der Entwickelung im 1. Versuch nicht ausschließlich auf die Seltenheit der Fütterungen, sondern zum großen Teil auf zu niedrige Temperatur zurückzuführen ist, bewies ein 3. Versuch.

Versuch 3. 35 junge Läuse wurden bei 35° gehalten, wie jene vom 2. Versuch, aber nur 2mal täglich gefüttert. Sie häuteten sich zum 3. Mal nach 9—10 Tagen, also um 4—5 Tage früher als die gleich gefütterten, aber tagsüber kühler gehaltenen Läuse des 1. Versuchs, und nur 1—2 Tage später als die gleich warm gehaltenen 6mal gefütterten des 2. Versuches.

Versuch 4. 4 junge Läuse wurden bei täglich 2 Fütterungen auf einer gleichmäßig auf 25° erwärmten Tischplatte gehalten; eine häutete

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sich schon nach 11 Tagen zum 3. Mal, die anderen folgten innerhalb der nächsten 4 Tage; daß sie zur Entwickelung nicht mehr Zeit brauchten als die des Nachts wärmer gehaltenen Läuse No. 1, erklärt sich am besten damit, daß jene täglich, wenn auch nur kurze Zeit, stärker abgekühlt wurden, wenn ich mich mit ihnen ins Freie begab.

Versuch 5. Von 2 jungen Läusen, die bei 16° gehalten wurden, starb eine nach 3 Tagen, weil sie 48 Stunden nicht gesogen hatte. Die andere ließ ich täglich im warmen Zimmer so lange auf meiner Haut herumkriechen, bis sie sich zum Saugen entschloß, was zuweilen mehrere Stunden dauerte. Sie häutete sich

nach 14 Tagen zum 1. Mal,
„ 24 „ „ 2. „

am 25. Tag sog sie erst nach mehreren vergeblichen Versuchen. Am 26. Tag war sie rötlich verfärbt und konnte trotz vieler Versuche nicht saugen. Am 27. Tag war sie auch an Kopf und Füßen leuchtend blutrot, wie ich noch keine gesehen hatte. Sie hielt sich unbeweglich. Am Abend war sie tot. Ich werde auf die rötliche Verfärbung und deren vermutliche Ursache weiter unten zurückkommen.

Versuch 6. Eine Laus wurde bei 4° gehalten, sie befand sich dabei 3 Tage lang ganz wohl, der Mageninhalt veränderte sich aber weder in Farbe noch Umfang. Infolgedessen weigerte sie sich zu saugen. In einen Raum von ca. 10° gebracht, sog sie meist nur einmal täglich und ging nach 13 Tagen ein, ohne sich gehäutet zu haben.

Abkühlung, wenn nicht andauernd oder unter 20°, schadet den jungen Läusen gesundheitlich nicht, sondern verzögert nur das Wachstum. Temperaturen unter 20° schädigen die Entwickelung auch indirekt, indem sie die Verdauung verlangsamen und dadurch die Futteraufnahme vermindern; auf die Dauer angewendet, führen sie zum Tode.

Kopulation, Eiablage, Lebensdauer.

Nach Warburton folgt der letzten Häutung ein „nicht funktionierendes Stadium“ von 4 Tagen. Warburton konnte von 4 Läusen nur 2 bis zur Reife bringen; bei mir starben von den Jungen No. 1, 2 und 3 nur solche, die bei der 1. Fütterung nicht gesogen hatten, was aus Zeitersparnis bei besonders lange zögernden nicht immer abgewartet wurde; ich schließe daraus, daß er seine Läuse nicht so sorgfältig fütterte, als bei nur 2maliger täglicher Fütterung warmgehaltener Läuse notwendig ist. Damit wäre das von ihm beobachtete „Nichtfunktionieren“ einfach erklärt, denn unterernährte oder zu kühl gehaltene Läuse legen keine Eier.

Bei meinen Läusen No. 3 beobachtete ich 10 Stunden nach der 3. Häutung die 1. Kopulation, und 24—48 Stunden nach der Häutung wurden in den Versuchsreihen 1, 2 und 3 die ersten Eier gelegt. Die Weibchen legen in den ersten 3—4 Tagen 2—4 Eier täglich, dann steigt die Eierzahl auf 5—7; auch 8 kommen öfters vor. Zwei ♀ legten einmal 10 Eier in 24 Stunden; ein anderes legte an zwei aufeinander folgenden Tagen je 10 Eier. 1—2 Tage vor dem Tode sinkt die Eizahl wieder auf 2—4. Auch die ersten Eier, ebenso wie die wenige Stunden vor dem Tode gelegten, sind entwickelungsfähig.

In der Literatur wird die Zahl der von einem Tier gelegten Eier stets viel zu niedrig angegeben. **Ich erhielt bei sorgsamer Pflege der Tiere noch viel mehr Eier als Warburton, nämlich von 4 ♀ 175, 194, 197 und 198 Eier.**

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Daß die Läuse unter natürlichen Verhältnissen Eier auf das Stroh des menschlichen Lagers legen, glaube ich nicht, weil sie bei Temperatur unter 25° aufhören Eier zu legen. Ja eine nur 2—3 Stunden täglich dauernde Abkühlung auf 16° hat schon ein merkliches Sinken der Zahl der gelegten Eier zur Folge. Im Winter würde vermutlich das allabendliche Ablegen sämtlicher Kleider in einem Raum von weniger als 16° und das Aufbewahren des Lagerstrohs, der Bettdecken usw. tagsüber in einem ungeheizten Raume genügen, um die Läuse am Eilegen und die schon vorhandenen Eier am Auskriechen zu hindern, und die Läuse allmählich so zum Aussterben zu bringen. Es ist schade, daß die Anwendung dieses langsamen Vertilgungsmittels im Felde praktisch unmöglich ist. Es müssen noch Versuche angestellt werden, ob vielleicht schon eine einmalige starke Abkühlung die ♀ Läuse so sehr schädigt, daß sie aufhören Eier zu legen.

Ein ♀, das 20 Stunden nach der letzten Häutung kopuliert hatte und dann allein eingesperrt wurde, legte nach 12 × 24 Stunden zum letzten Male befruchtete Eier, im ganzen 64; von da an entwickelte sich keines der Eier mehr. Ein anderes sogleich nach der 1. Kopulation separiertes ♀ legte in 9 × 24 Stunden 20 Eier, die sich alle entwickelten; dann entkam es leider. Die Tatsache, daß eine Kopulation zur Befruchtung so vieler Eier genügt, steht in einem merkwürdigen Widerspruch zur Häufigkeit der Kopulationen und dem angeblichen Fehlen eines Receptaculum seminis bei P. vestimenti.

Die Kopulation dürfte in 24 Stunden einmal stattfinden. Bei einem Paare wurde sie beobachtet am 18., 20., 21., 22., 25. abends, 27. morgens, 2. des nächsten Monats, 3. vormittags, 3. abends, 6. abends, 7. morgens u. s. w.

Wenn man ein mit Läusen besetztes Kleidungsstück untersucht, gewinnt man den Eindruck, daß die Zahl der ♀ die der ♂ bedeutend überwiegt. Wenn man aber eine größere Anzahl Eier, z. B. die Eiausbeute eines Tages auskriechen läßt, und die Jungen aufzieht, so überzeugt man sich, daß ursprünglich beide Geschlechter ungefähr gleich oft vertreten sind mit einem geringen Ueberwiegen der ♀. Ich fand unter 24 Läusen (von den Versuchen 1 und 4) 14 ♀ und 10 ♂. Unter 11 anderen Läusen waren 6 ♀ und 5 ♂.

Das starke Ueberwiegen der ♀ dürfte durch einen Unterschied in der Lebensdauer, den schon Warburton feststellte, zu erklären sein.

Ich fand ebenfalls im 1. Versuch einen kleinen Unterschied. Ein ♀ von unbekanntem Alter lebte 39 Tage in der Gefangenschaft.

Ein isoliertes ♀	**lebte**	**nach**	**der**	**3.**	**Häutung**		**45**	**Tage**	(197	Eier).
Ein ♀	„	„	„	„	„		**37**	„	(198	„).
„ ♀	„	„	„	„	„		**37**	„	(194	„).
„ ♀	„	„	„	„	„		**36**	„	(175	„).
„ ♀	„	„	„	„	„		**25**	„	(81	„).
„ ♀	„	„	„	„	„		**21**	„	(88	„).
Ein ♂	**lebte**	**nach**	**der**	**3.**	**Häutung**		**35**	**Tage.**		
„ ♂	„	„	„	„	„		**31**	„		
„ ♂	„	„	„	„	„		**30**	„		
„ ♂	„	„	„	„	„		**28**	„		
„ ♂	„	„	„	„	„		**21**	„		

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Entwickelung der Eier.

Warburton sagt, daß die Eier mit einem Stückchen Stoff herausgeschnitten werden sollen, da sie sich nicht entwickeln, wenn man sie von den Stoffasern gewaltsam lostrennt. Dies scheint von der Stoffart abzuhängen; von einem glatten Stoff könnte man die Eier, da der Eikitt sehr hart ist, nicht losreißen, ohne sie zugleich zu zerquetschen. Von einem sehr groben weichen, wolligen Stoff aber könnte man die einzelnen Eier sehr gut mit einigen mikroskopischen Faserchen herunterreißen, denn sie sind gegen mechanische Beschädigungen durchaus nicht empfindlich. Zuweilen fand ich Eier, die teils an einem Haar, teils an der Hülsenwand festgekittet waren; ich sprengte sie mit der Pinzettenspitze vom Glase ab und beobachtete mehrmals normale Entwickelung.

Am Institut gelang es sowohl im chemischen als auch im zoologischen Laboratorium regelmäßig, die Eier entweder im Zimmer in der Nähe der Dampfheizung bei mehr als 20°, oder in den Brutschränken bei 30—35° zur Entwicklung zu bringen. Im Anfang setzte ich der Luft in den Präparatgläsern künstliche Kohlensäure und etwas Wasser zu, oder ich atmete in die Gläser hinein in der Hoffnung, die Ausatmungsluft wäre ähnlich zusammengesetzt wie die Luft innerhalb der menschlichen Kleidung; auch glaubte ich den eingeschliffenen Glasstöpsel der Präparatgläser mit Vaseline (deren Nachbarschaft ich in einem Kontrollversuch als unschädlich befunden hatte) abdichten zu müssen. Diese Vorsichtsmaßregeln erwiesen sich zwar nicht als der Entwickelung der Eier hinderlich, aber als vollkommen überflüssig, denn die ohne jede Vorsichtsmaßregeln in kleinen Glasdoppelschalen aufbewahrten Eier krochen ebensogut aus.

Die vielen Mißerfolge im Läuseausbrüten, von denen man hört und liest, sind wahrscheinlich schädlichen Substanzen in der Luft der Versuchsräume zuzuschreiben. Die Eier dürften gegen ständige Einwirkung sehr verdünnter Gifte viel empfindlicher sein als gegen nur stundenlangen Aufenthalt in stark vergifteter Luft. In ganz schwach und angenehm nach Origanum-, Anis-, Bergamott-, Nelken-, Macis-, Zimmet-, Melissen-, Pfefferminz- und Ysop-Oel duftenden Glashülsen vermochten sich die Eier nicht zu entwickeln, gleichviel, ob man sie kurz nach der Ablage oder hochentwickelt (im „pumpenden Stadium") hineinbrachte. Die Kontrolleier sowie die in der Angelikaöl-Hülse entwickelten sich normal. Wulker hingegen fand ätherische Oele gegen Eier unwirksam. Warburton sagt, daß einzelne Eier sich langsamer entwickeln als die übrigen, ohne daß ein Grund dafür aufgefunden werden könnte. Ich konnte niemals etwas dergleichen beobachten; die annähernd gleichalterigen (in einem Zeitraum von 24 Stunden gelegten) Eier krochen auch annähernd gleichzeitig aus, wenn sie bei derselben Temperatur gehalten wurden.

Eine Entwickelung in 3—4 Tagen, wie sie in den meisten Parasitologieen angegeben wird, konnte ich gleichfalls nie beobachten. **Bei 35° (gleichviel ob im Brutschrank oder am Menschen) kriechen die Jungen nach 6 × 24 Stunden aus.** Da die Temperatur von 35° als die natürliche angesehen werden kann, suchte ich die Entwickelung der Eier zu beschleunigen, indem ich sie bei 45° hielt, nach der Vant'Hoffschen Regel, daß die Entwickelung mit zunehmender Temperatur beschleunigt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und durch Einwirkung einer um 10° höheren Temperatur die Entwickelungsgeschwindigkeit 2—3-fach gesteigert wird. Die Eier gingen aber zugrunde, ebenso andere, die bei 42 und 40° gehalten wurden, während sich die Kontrolleier in meiner Tasche normal entwickelten. Freilich ist es unwahrscheinlich, daß die Temperatur selbst die Eier abtötete; es ist nämlich sehr schwierig, die Atmosphäre im Glas auf einen geeigneten Feuchtigkeitsgrad zu bringen. Die Eier sind gegen zu große Feuchtigkeit ebenso empfindlich wie gegen zu große Trockenheit, und so oft ich mich auch bemühte, das Feuchtigkeitsoptimum zu treffen — stets vertrockneten die Eier, oder es kondensierte sich Wasserdampf an ihnen. Die Eier scheinen sich geradezu hygroskopisch zu verhalten; dies könnte zur Vertilgung der Eier ausgenützt werden, indem man Wasserdampf — der weder sehr heiß, noch gesättigt zu sein brauchte — mit einer für die Eier giftigen Substanz beladen würde, so daß der Wasserdampf das Gift an das Ei heranträgt.

Bei 35° sind nach ca. 88 Stunden schon die Gliedmaßen und die pigmentierten Augen des Embryos zu sehen. Nach 124—128 Stunden beginnt die junge Laus sich mittels ihrer Saugpumpe Luft in den Magen zu pumpen. Von vorn und von der Seite sieht man mit Zeiss AA- oder C-, oder Winkler 13 mm-Linsen die lichtbrechenden Luftblasen aus der 1. in die 2. Saugpumpenabteilung und von da in den Oesophagus gelangen, in dem sich eine größere Luftmenge ansammelt, bevor sie in den Magen entleert wird. Den oberen Teil des beim Embryo S-förmig gekrümmten Oesophagus kann man am besten vom Rücken aus sehen. Der Körper eines Embryos vor dem Luftpumpen füllt nur $^3/_4$ des Eies aus. Kurz vor dem Auskriechen reicht das Hinterleibsende bis auf den Grund des Eies. Diese bedeutende Längenzunahme scheint, da in diesem Stadium der Entwickelung kein Dotter mehr vorhanden ist, auf dessen Kosten das Tier noch wachsen könnte, nur durch die große in den Magen aufgenommene Menge von Luft bewirkt zu werden. Diese Luft gelangt durch die Mikropylen am Eideckel in das Innere des Eies. Verschließt man diese kleinen Oeffnungen, z. B. mit Glyzerin, das man mit einer feinen Pinselspitze auf den Eideckel bringt, so hört das Tier nach einiger Zeit, d. h. sobald die Luft im Ei zu sehr verdünnt ist, mit Pumpen auf, und geht ein.

Unternimmt man nichts, um der Laus den Luftzutritt zu versperren, so sprengt sie schließlich das Deckelchen am oberen Eipol. Der bisher auf die Brust heruntergebogene Kopf wird nach dem Durchtritt durch die Eiöffnung gerade gerichtet, dann zieht das Tier das erste Beinpaar durch die enge Oeffnung. Da die Laus fortfährt, Luft in ihr Inneres zu pumpen, scheint es, daß sie durch den Darm die Luft in das Ei entleert, um durch den vergrößerten Luftdruck im Innern des Eies ihr Abdomen und die nach rückwärts ausgestreckten Beinpaare durch die enge Oeffnung zu pressen. Das ganze Ausschlüpfen dauert normalerweise 2—3 Minuten. Bei einem Tier, das sich seit Stunden unter lebhaftem Luftpumpen vergebens bemühte, seine 2 hinteren Beinpaare mit dem Abdomen aus dem Ei zu befreien, schnitt ich vorsichtig das hintere Ende des Eies ab. Daß die Laus nach einigen Stunden aufhörte, Luft einzupumpen. und am nächsten Tage verhungert war, ohne das Ei verlassen zu können, ist aber kein Beweis für die Notwendigkeit eines erhöhten Luftdruckes im Innern des Eies zum endgültigen Ausschlüpfen, weil es sich eben von vornherein um ein abnormes Exemplar handelte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Eier, die ganz kurz vor dem Ausschlüpfen stehen, kann man schon mit freiem Auge an ihrer gelblichbraunen Farbe erkennen.

Nach Wulker geht die Entwickelung des Läuseeies bei „Zimmertemperatur" in 4—6 Tagen vor sich. Unter Zimmertemperatur glaube ich 14—25° verstehen zu sollen. Bei diesen Temperaturen entwickelten sich meine frischgelegten Läuseeier viel langsamer oder überhaupt nicht; die auf einer ständig auf 25° erwärmten Tischplatte untergebrachten Eier krochen erst nach 16 Tagen aus.

Eier, die in einem gleichmäßig auf 16° C erwärmten Raume gehalten wurden, entwickelten sich nicht.

Andere Eier, die in einem tagsüber ca. 20° warmen Raume, in dem die Temperatur aber in der zweiten Hälfte der Nacht bis auf 6—10° sank, gehalten wurden, entwickelten sich gleichfalls nicht.

Am 22. März legte ich eine größere Anzahl Eier in einer vor Nässe geschützten Glashülse im Freien auf die Erde eines Balkonkastens. Am 16. April sahen die Eier, abgesehen von einer geringgradigen Schrumpfung und einer dadurch bedingten Einbuchtung der Eihülle, ganz normal aus, erwiesen sich aber, als ich einen Teil davon in 16°, einen anderen in 35° brachte, als nicht mehr entwickelungsfähig. Heute — nach $2^1/_2$ Monaten — sind die bei 16° aufbewahrten Eier zum Teil vertrocknet, andere sehen immer noch ganz gut aus, aber bei mikroskopischer Betrachtung überzeugt man sich, daß der Inhalt geschrumpft und schollig zusammengeballt ist, so daß fernerhin die Entwickelung ausgeschlossen ist.

Ernährung.

Die Läuse können in jeder beliebigen Stellung saugen. Durchschnittlich saugen die erwachsenen bei täglich 2maliger Fütterung 1—$1^1/_2$ Stunden; es kommt aber auch vor, daß ein Tier 2 oder 3 Stunden an die Haut angeheftet bleibt und mit kurzen Pausen immer wieder Blut pumpt, unter Ausscheidung großer flüssiger, aber rasch vertrocknender Exkrementmengen, die viele unzersetzte Blutkörperchen enthalten, zum Teil stechapfelförmige. Die Saugpumpe eines erwachsenen Tieres bewegt sich in 20 Sekunden ca. 50mal.

Mehrere Autoren geben an, daß der Stich der Laus Juckreiz hervorruft. Auf Grund meiner großen Erfahrung auf dem Gebiete des „Von-Läusen-gestochen-werdens", nach Empfang von ca. 4000 Stichen in 3 Monaten, muß ich dieser Behauptung widersprechen. An den meisten Stellen ist die Haut gegen so geringfügige Verletzungen ganz unempfindlich; auf je 10 saugende Tiere kommt nur eines, dessen Stich ich wie den Stich einer sehr feinen Nadel spüre. Schwachen Juckreiz habe ich nur dann gefühlt, wenn (Versuch 3) 34 junge Läuse fast zugleich auf einem $1^1/_2$ cm großen Flecke ungefähr in der Mitte des Handrückens anbissen; außerhalb dieser einen, offenbar mit sensiblen Nerven besonders gut versehenen Stelle fühlte ich auch von den 35 gleichzeitig saugenden Tieren nur einige schwache Stiche. Auch am Fuß oberhalb des Knöchels — dies soll eine der Prädilektionsstellen der Laus sein — verursachte der Stich keinen Juckreiz. Allerdings könnte es Sache der individuellen Disposition sein; ich bin auch gegen Mückenstich nicht sehr empfindlich. Hingegen kann ich nicht bestreiten, daß die Läuse, wenn sie über die Haut kriechen, durch das Anstreifen an den feinen Haut-haaren ein unangenehmes, kitzelndes Gefühl verursachen, das bei Vor-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

handensein einer größeren Menge von Parasiten sehr störend sein dürfte. 1 mm rings um die Bißstelle ist die Haut — besonders am Arm, weniger auf dem dunkleren und derbhäutigen Handrücken — etwas gerötet. Vermutlich ist ein durch den Stechapparat eingeführtes Drüsensekret die Ursache für die Hyperämie der benachbarten Hautkapillaren, die in bezug auf die Größe der Blutausbeute für die Laus sicherlich von Nutzen ist; diese Röte verschwindet meist $^1/_2$ Stunde, nachdem die Laus aufgehört hat zu saugen. Das bekannte charakteristische Läuseexanthem trat bei mir — trotz heller Haut — nicht auf. Vielleicht entsteht es infolge des Eindringens von Substanzen aus zerquetschten Läusen in die Kratzwunden. Es ist aber auch möglich, daß bei meinen Versuchen die Zahl der Stiche (höchtens 100 in einem Tag) zur Erregung des Exanthems nicht groß genug war, wenn sie auch immer auf derselben ca. 50 qcm großen Fläche des linken Vorderarmes und Handrückens angebracht wurden. Bei einer großen freilebenden Läusebevölkerung dürfte die Zahl der täglichen Stiche tausende betragen, wenn man annimmt, daß eine freilebende Laus 3—4mal in 24 Stunden saugt. Wenn man hungrige Kleiderläuse auf die gut rasierte Rückenhaut eines Kaninchens setzt, so versuchen sie vergebens zu saugen; sie stechen offenbar, vermögen aber kein Blut herauszupumpen. (Daß die Kleiderläuse an Meerschweinchen und Mäusen Blut saugen, ist im Institut wiederholt beobachtet worden.)

Ich setzte 2 junge Läuse vor der ersten Häutung, die 12 Stunden bei 35° gehungert hatten, auf frischrasierte Kaninchenhaut. Die eine kroch herum, ohne sich auch nur zu einem Versuch entschließen zu können, die zweite stach nach langem Zögern; dann blieb sie 10 Minuten unbeweglich in der Saugstellung. Als sie losließ, war ihr Magen nicht mehr gefüllt als vorher. Auf meine Hand gesetzt, sogen sich beide ohne Zögern voll. Kaninchenläuse (Haematopinus ventricosus?), die bei durchschnittlich 30° 24 Stunden gefastet hatten — die Kaninchenläuse verdauen langsam — versuchten, als ich sie auf meine Hand setzte, vergeblich, Blut zu saugen. Wenn man nun bedenkt, daß der Saugapparat von ganz jungen Pediculus vestimenti nicht länger ist, als der von Kaninchenläusen, so kann man sich angesichts des Unvermögens der Kleiderlaus, auf Kaninchen, und des Unvermögens der Kaninchenlaus, auf Menschen Blut zu saugen, des Eindruckes nicht erwehren, daß zum Blutsaugen nicht nur die Einführung der Spitze des Stech- und Saugapparates in das Corium, sondern auch die Erregung der Hyperämie in den benachbarten Kapillaren durch die Einführung eines (artspezifisch?) reizenden Drüsensekretes notwendig ist, dessen Abscheidung bei Krankheit und durch zu langes Hungern hervorgerufener Schwäche der Laus vermindert oder aufgehoben ist.

Es wurde bisher angenommen, daß den Läusen Temperaturen über 30° schädlich sind. Ich überzeugte mich aber, daß sie sich bei 35° sehr wohl fühlen; diese Temperatur dürfte sogar das Optimum sein.

Je höher die Temperatur, desto schneller erfolgt die Verdauung, und desto größer ist auch das Saugbedürfnis der Läuse. Die ganze bei einer 2 Stunden dauernden Mahlzeit aufgenommene Blutmenge wird bei 35° in 8—10 Stunden gänzlich verdaut; Magen und Darm sind dann leer. die Tiere sehen infolgedessen hell aus. Bei 6—8° ist nach 10 Stunden der Mageninhalt noch ganz unverändert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei 24° am Tage und 35° des nachts verhungerten mir einzelne Läuse schon nach dem Ueberspringen einer der 2 täglichen Mahlzeiten. Bei dieser Temperatur vermag keine Laus über 20—26 Stunden ohne Nahrung zu leben.

Bei 16—18° können die Läuse, ohne zu saugen, nur höchstens 3 × 24 Stunden leben, bei 22° nur 2 × 24 Stunden. Wenige Stunden vor dem drohenden Hundertode haben die Läuse noch genügend Kraft, um eine sich bietende Sauggelegenheit zu benützen; aber zwischen dem Anfang des Saugaktes und dem Einströmen von Blut in den Saugpumpenapparat im Kopfe vergeht dreimal soviel Zeit wie bei einer lebenskräftigen Laus.

Ueber Färbungsanomalien.

Unter der Läusebevölkerung eines Menschen kann man schon mit freiem Auge 3 Farbenvarietäten unterscheiden: hell-weißliche, schwärzlich-graue mit stark entwickelten Chitinskleriten und vereinzelt rötlichbraun bis lebhaft rot gefärbte Exemplare. Ich überzeugte mich, daß die roten ursprünglich gewöhnliche gefärbte Läuse waren, die unter dem Einfluß gewisser Schädigungen sich rötlich verfärbten. Bei einer „wilden" Laus unbekannten Alters trat, 1 oder 2 Tage nachdem ich sie unter meine Pfleglinge aufgenommen hatte, eine leichte Braunfärbung von Thorax und Abdomen auf, die allmählich stärker wurde, ungefähr eine Woche stehen blieb und dann langsam abblaßte. Dies war das einzige Mal, daß ich eine in Heilung ausgehende Verfärbung geringen Grades beobachten konnte; ausgesprochener Rotfärbung folgt regelmäßig der Tod des Tieres.

Die rot gefärbten Tiere vermögen nicht mehr zu saugen, obwohl sie zuweilen noch lange und oft wiederholte Saugversuche machen.

Läuse, die unter 20° gehalten werden, sterben auffallend oft unter Rotfärbung, doch kommt diese, wie schon oben bemerkt, auch unter natürlichen Verhältnissen vor. Herr Dr. Halberkann beobachtete sie bei Läusevertilgungsversuchen an vergifteten Läusen.

Die Rotfärbung scheint die Folge einer Stoffwechselstörung zu sein. Da das Blut einiger Insekten (z. B. der schönen roten Chironomus-Larven, die man in jedem Tümpel sieht) normalerweise gelöstes Hämoglobin enthält, liegt die Vermutung ziemlich nahe, daß es sich bei der Rotfärbung der Läuse um einen Durchtritt von unzersetztem Hämoglobin aus dem Mageninhalt durch die, durch Schädigungen dafür permeabel gewordene Magenwand in das Blut des Insekts handelt.

Es wäre aber auch möglich, daß die Rotfärbung ein ähnlicher Vorgang ist wie die Melanose, d. h. die Schwärzung von Insektenblut an der Luft durch die Wirkung eines oxydativen Fermentes, einer Tyrosinase, auf ein Chromogen.

Prüfung der Sinnesschärfe.

Ich versuchte wiederholt, festzustellen, auf welche Entfernung der Mensch auf die Läuse Anziehung ausübt, und fand, daß die Kleiderläuse die menschliche Haut auf höchstens 3 cm Entfernung wahrnehmen.

Läuse, die im zerstreuten Licht des Zimmers 12 Stunden bei 22° gehungert hatten, wurden auf den mit Linoleum belegten Fußboden gesetzt; ich ging 1 m von ihnen entfernt hin und her, um durch Erschütterung des Bodens die Aufmerksamkeit der Läuse zu erregen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dann gestikulierte ich mit den Händen vor den dunklen Kleidern, um den Läusen meine Anwesenheit optisch bemerkbar zu machen. Endlich rückte ich auf 50, 20, schließlich auf 10 cm Entfernung heran — vergebens; die Tierchen krochen schwerfällig und ziellos in kleinen Kreisen herum, ohne von mir die geringste Notiz zu nehmen. Für den Fall, daß die Tiere sich durch den Geruchssinn leiten lassen würden, wiederholte ich den Versuch in einem Raum, in dem keine Chemikalien aufbewahrt wurden; das Ergebnis war wieder negativ.

Ich setzte 3 Läuse, die bei 22° 24 Stunden gefastet hatten, auf ein großes, weißes, am Tisch ausgebreitetes Tuch und stellte mich nahe an dessen Rand, indem ich wieder optische Signale gab. Die Läuse krochen in 3 Richtungen auseinander, 2 entfernten sich und eine näherte sich mir. Auf 3 cm Entfernung von meiner auf den Rand des Tuches gelegten Hand schwenkte sie ein wenig von ihrer bisherigen Richtung ab, kroch auf meine Hand zu und wollte daraufklettern.

Ich befestigte eine Ecke des Tuches an einem Metallhalter, so daß das Tuch ein schiefe Ebene von 80° bildete, und setzte 6 Läuse darauf. Die meisten von ihnen krochen sogleich aufwärts, dem höchsten Punkte zu. Auch diejenigen, die im Anfang noch wagerecht oder abwärts krochen, strebten später der Höhe zu. Im Aufwärtskriechen legten sie in einer Minute einen Weg von 10, 14, 16 cm zurück.

Eine im Emporkriechen begriffene Laus wurde bewogen, einen Halbkreis beschreibend, umzukehren, als ich meinen Finger 1 cm hinter sie hielt.

Auf 1—2 cm Distanz lockt die menschliche Haut die Läuse meist an, auf 3 cm Entfernung ist die Anlockung schon zweifelhaft. Eine mit Schweiß verwitterte Hand übt auf die Läuse keine merklich stärkere Anziehung aus.

Ein erwärmtes Glasgefäß zog die Läuse nicht besonders an; Läuse, die sich zwischen der Hand und dem Glas befinden, wenden sich, wenn sie überhaupt deutlich reagieren, der Hand zu. Es scheint also nicht die Wärme, sondern der Geruch die Läuse anzulocken.

Präparation der inneren Organe.

Um die inneren Organe der Laus zu präparieren, schneiden Patton und Cragg den ganzen seitlichen Rand des Integumentes mit geschliffenen Nadeln weg und präparieren das Integument der Bauchseite ab, so daß die Organe frei liegen und einzeln herausgeholt werden können. Ich konnte mit folgender weit roheren und schnelleren Methode befriedigende Resultate erzielen:

Um den Magen herauszupräparieren, legt man die chloroformierte Laus auf den Rücken, schneidet mit einer Impffeder den Kopf mit einem Stück Thorax ab (da man von der Bauchseite aus die lateralen Ausbuchtungen des Magens deutlich sieht, und der Magen mit den Speicheldrüsen überdies geneigt ist, dem Druck der Schneide nach rückwärts auszuweichen, läuft man kaum Gefahr, zu viel abzuschneiden), dann schneidet man ein ganz kleines Stückchen der Hinterleibsspitze ab und walzt nun die ganzen inneren Organe aus dem Integument heraus, indem man einen 3 mm dicken Glasstab von hinten nach vorn darüberrollt. Der Magen ist meist sehr gut erhalten, und fast immer hängen auch die 3 Drüsenpaare: die nierenförmigen Speicheldrüsen, die „groß-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zelligen Drüsen" und die an der dorsalen Seite des Magens angehefteten hufeisenförmigen Speicheldrüsen unbeschädigt daran.

Legt man mehr Wert auf gute Erhaltung der Malpighischen Gefäße und der Rectaldrüse, als auf die Speicheldrüsen, so durchtrennt man Oesophagus und Speicheldrüsengänge, indem man den Kopf abschneidet. Dann schneidet man das Abdomen links und rechts ein, hält den rückwärtigen Teil mit der Spitze der Impffeder fest und zerrt, möglichst ohne zu quetschen, am vorderen Teil, bis er in der Verlängerung der seitlichen Einschnitte abreißt. Dabei wird der Magen aus Thorax und vorderer Abdomenhälfte herausgezogen. Dann schneidet man die äußerste Hinterleibsspitze weg und zieht den Darm mit der Rektaldrüse aus dem hinteren Abdomenstück.

Will man den Mageninhalt ausstreichen, so kann man bei einiger Uebung trocken präparieren; man legt die Laus auf das Ende des Objektträgers, quetscht mit dem Glasstab den Leibesinhalt heraus und hat nun einige Sekunden Zeit, den Magen zu isolieren, indem man mit freiem Auge die Eierstöcke etc. rasch beseitigt, ehe man ausstreicht.

Zur Präparation des Magens eignen sich am besten Tiere, die bei 18° 24 Stunden gehungert haben; ein zu voller Magen zerreißt fast immer, wenn man ihn von Fettzellen, Tracheenverzweigungen etc. befreien will, was allerdings zur Demonstration der Magenscheibe oder der hufeisenförmigen Speicheldrüse vorteilhaft sein kann.

Um die Sexualorgane herauszupräparieren, macht man beiderseits des letzten oder vorletzten Hinterleibssegmentes Einschnitte. Dann schneidet man die Vorderhälfte des Thorax ab. Beim ♀ hält man die halb abgetrennte Abdomenspitze mit einer stumpfen Impfnadel fest und zerrt vorsichtig an dem Vorderteil, bis die Verbindungsstelle reißt und die Eierstöcke, aus dem vorderen Abdomenteil herausgezogen, am rückwärtigen hängen bleiben.

Beim ♂ zerrt man nur so lange, bis die Teile auseinanderreißen, würde man weiter ziehen, so würden die zarten Vasa deferentia reißen, deshalb ist es besser, den ganzen Leibesinhalt, diesmal von vorn nach hinten, mit dem Glasstab herauszuwalzen. Will man ein Demonstrationspräparat machen, so ist es zweckmäßig, das Ganze 3—4 Tage in Glyzerinwasser 1 : 3 offen liegen zu lassen; dann erst kann man, ohne Zerreißungen befürchten zu müssen, die Fettzellen, Tracheenverzweigungen etc. wegzupfen und den durch das Herausquetschen verwickelten Organen eine natürliche Lage geben.

Anhang.

Ueber die Schweinelaus (Haematopinus suis).

Ich möchte an dieser Stelle auch der Schweinelaus, Haematopinus suis, kurz gedenken, da dieses Insekt sich vielleicht als geeignet zu Experimenten, sei es auch nur über die Uebertragung von Tierseuchen, erweisen wird.

Die den Pediculinen nahe verwandte Schweinelaus ist viel leichter in der Gefangenschaft zu halten als die Kleiderlaus. Allein schon ihre stattliche Größe (4,5 mm Länge und 2,5 mm Breite), ihre dunkle Färbung und ihre Neigung, sich an jedem vorgehaltenen Gegenstand, z. B.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Pinzette, festzuklammern, erleichtert einem die Handhabung des Tieres ungemein.

Die Schweineläuse saugen, wenn sie nicht durch zu langes Hungern geschwächt sind, mit der größten Bereitwilligkeit am Menschen. Auf Rücken oder Nacken eines Ferkels lassen sie sich bequem in Müllergazesäckchen halten.

Die Schweinelaus nimmt bei einer Mahlzeit verhältnismäßig viel weniger Blut auf als die Menschenlaus; man muß sie infolgedessen 3- bis 4mal täglich füttern mit höchstens 8 Stunden Nachtfutterpause. Am besten aber ist es, wenn man sie in Erbstüll- oder Müllergazesäckchen dauernd auf einem Menschen oder Versuchstier hält. Im Zimmer bei ca. 18° lebt die Schweinelaus ohne Nahrung höchstens 40 Stunden. Man kann den Schweineläusen trotz ihrer dunklen Farbe leicht ansehen, ob sie vollgesogen sind oder nicht; der schmale, dunkle Magen schimmert meist deutlich genug durch die schwärzliche Zeichnung der Rückenmitte durch, wenn er gefüllt ist, auch sitzt bei einer vollgesogenen Laus ein Glanzlicht auf dem gewölbten Rücken, während eine hungrige Laus flach, glanzlos und querrunzelig aussieht.

Die Größe des Kopfes und Stechapparates bringt es mit sich, daß man jeden Stich deutlich spürt. Am 1. und 2. Tage der Schweinelausfütterung sah ich auf meiner Haut fast keine Reaktion. Von da an rötete sich die Haut $1^1/_2$ mm um die Stichstelle herum, schwoll auch ein wenig an. Auch nach 24 Stunden sind die einzelnen Bißstellen noch deutlich zu erkennen. Man könnte dieses als eine Anpassung des Drüsensekretes an den Wirt, vielleicht gewissermaßen passiv durch Uebernahme und Anreicherung gewisser Stoffe aus dessen Blut, deuten.

Es ist interessant, zu beobachten, wie sicher die Schweinelaus mit ihren Füßen, die denen der Pediculinen ähnlich sind, einzelne Haare festhalten kann. Wenn man einen über die Haut kriechenden Haematopinus mit den daruntergeschobenen Pinzettenspitzen ein wenig emporhebt, und er hält sich mit einem seiner mächtigen Greiffüße an einem feinen Hauthaare fest, so fühlt man deutlich den Zug an diesem Haar.

Die Schweinelaus legt bei täglich 4 Fütterungen am Menschen 2 Eier, bei ständiger Sauggelegenheit am Menschen 4 Eier täglich. Die Eischale ist durchsichtig, aber mit kleinen, bienenwabenartig angeordneten Vertiefungen bedeckt, deren schief ansteigende Seitenränder das Licht so stark reflektieren, daß die trockene Eischale kalkig-weiß aussieht.

Tags bei 26° und nachts bei 35° gehalten, entwickeln sich die Eier in 17 Tagen.

Ich fand einmal ein Weibchen, das im Begriff stand, ein Ei zu legen. Es saß auf einer der wenigen unter ein Büschel Menschenhaar gemischten Schweinsborsten, die es mit allen Füßen der einen Seite festhielt. Nur der hintere Eipol war sichtbar, dieser war aber schon mit einem länglichen Tropfen Kittdrüsensekret an der Borste festgeklebt. Der Kitt sah noch weich aus und war an der Oberfläche quergestreift. Nachdem die Laus etwa 10 Minuten unbeweglich sitzen geblieben war, ohne daß das Ei weiter hervorgetreten wäre, kroch sie vorwärts. Der Kitt war an der Luft schon erstarrt, denn das Ei blieb festgeklebt an der Borste und verließ, indem die Laus sich zu entfernen strebte, deren Körper. Wahrscheinlich wird die Zugwirkung durch Kontraktion der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:21 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Muskulatur unterstützt, aber vermutlich vermag die Laus das Ei durch Muskelkraft allein nicht abzulegen.

Auch bei Pediculus dürfte sich der Legeakt nicht wesentlich anders abspielen; es gelang mir leider niemals, die Kleiderlaus beim Legen zu beobachten, obwohl sie auch am Tage Eier legt, wenn auch das nächtliche Eiquantum immer ein viel größeres ist.

Literatur über die Biologie der Laus.

Brauer, A., Ueber die Unzulänglichkeit der bisherigen Entlausungsverfahren. (Deutsch. med. Wochenschr. 1915.)
Braun u. Seifert, Die tierischen Parasiten des Menschen. Würzburg 1915.
Eysell, Die Krankheitserreger und Krankheitsüberträger unter den Arthropoden. (Mense, Handb. d. Tropenkrankh. Bd. 1. 1913.)
Nocht u. Halberkann, Beiträge zur Läusefrage. (Münch. med. Wochenschr. 1915.)
Patton and Cragg, A Textbook of medical Entomology. London, Madras and Calcutta 1913.
Prowazek, Bemerkungen über die Biologie und Bekämpfung der Kleiderläuse. (Münch. med. Wochenschr. 1915.)
Warburton, Report on Rag-Flock. (Report to the local Government Board etc. London 1910.)
Wulker, Zur Frage der Läusebekämpfung. (Münch. med. Wochenschr. 1915.)

Nachdruck verboten.

Studien über Pneumokokken-Immunität.

I. Mitteilung.

Die Leukocyten.

[Aus der bakteriologischen Abteilung der medizinischen Staatsanstalt zu Stockholm (Vorstand Prof. Dr. Alfred Pettersson).]

Von **J. Tillgren.**

Die Pneumokokken bewirken Infektion durch Massenvermehrung und Verbreitung der Kokken selbst im Tierorganismus, und wirken sonach — in einem gewissen Gegensatz zu den eigentlichen Toxinerzeugern — in erster Linie durch ihre Ubiquität. Die reinste Form dieser Septikämie tritt bei Infektion von besonders empfindlichen Tieren, wie Kaninchen, auf. Hier verursacht eine minimale Menge, dem Anschein nach ein einziges Individuum eines virulenten Stammes, die Infektion, die durch fortschreitende Bakterienvermehrung auch in der Blutmasse oft ohne lokale Affektionen während weniger Tage zu letalem Ausgang führt. Sonach weist die Pneumokokken-Septikämie bei Kaninchen in ihrem Verlaufe große Aehnlichkeiten mit z. B. der Milzbrandinfektion auf. Die Schutzmittel des Körpers gegen die Infektion mit Septikämie-Virus liegen scheinbar nicht am meisten in den bakteriolytischen Stoffen im Serum, die eine Massenvermehrung verhindern sollten (Pettersson u. a. m.)[1]), sondern dürften, gemäß den mit verschiedenen Untersuchungsmethoden gesammelten Erfahrungen, in den leukocytären Kräften oder in einem Zusammenwirken dieser und des Serums zu suchen sein. Bezüglich der Milzbrandimmunität hat, unter

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

anderen Forschern[1]), Pettersson[2]) in einer Reihe von Arbeiten die Bedeutung der Leukocyten für die Ueberwindung der Infektion nachgewiesen. Dieses Verhalten äußert sich teils so, daß immunisierte Tiere Leukocytose bekommen, und gerade das an Leukocyten reiche Serum ist das wirksame; teils überleben Tiere, die mit Exsudatleukocyten intravenös oder subkutan behandelt wurden, die Infektion mit virulenten Milzbrandbacillen.

Bezüglich der Strepto- und Pneumokokken hat Pettersson gezeigt, daß die Leukocyten gegen sie wirksame bakterizide Stoffe enthalten. Dieselben werden mitunter im Plasma (Much) oder Serum (Schneider) angetroffen, lassen sich aber besonders nach Auflösung der Zelle nachweisen (z. B. durch die Gefriermethode nach Buchner), woher der Name Endolysine (Pettersson). Dagegen ist Serum von Kaninchen, Meerschweinchen und Katze gegen Pneumokokken unwirksam. Ferner liegen Beobachtungen darüber vor, daß eine ganz reichliche Menge Leukocyten erforderlich ist, um gegen eine beträchtliche Infektionsdosis aufzukommen. Dies erfordert ein Zuströmen von Leukocyten im Organismus, d. h. die Bakterien sollen die Leukocyten positiv chemotaktisch beeinflussen. Rosenow (Journ. infect. Dis. 1906) beschreibt bei Untersuchung mit seiner Methode (s. unten) als Zeichen von Chemotaxis, daß sich die Pneumokokken, gleichsam wie agglutiniert, um die auf 60° erwärmten Leukocyten sammelten. Bei Milzbrandinfektion fehlt jedoch beim Kaninchen deutlich eine derartige Chemotaxis, und ein Teil der Beobachtungen zeigt, daß virulente Pneumokokken ebensowenig positiv chemotaktisch auf die Leukocyten einwirken. Letztere waren sonach in Mennes'[3]) Versuch (s. unten) gegen Pneumokokken in Normalserum von Kaninchen unwirksam. Pettersson wies ferner bei Kaninchen mit tödlich verlaufender Pneumokokken-Infektion Leukopenie nach. Es schien deshalb notwendig, auf künstlichem Wege eine reichliche Anhäufung von Leukocyten zu bewirken, um eine Einwirkung der Leukocyten auf die Pneumokken im Organismus beobachten zu können. Als ich im Jahre 1910 diese Arbeit begann, wurde es daher auch meine erste Aufgabe, nach derselben Methode — mit Injektionen von Exsudatleukocyten — die Pettersson, wie oben erwähnt, beim Studium der Milzbrandinfektion anwandte, die Pneumokokken-Septikämie an Kaninchen anzugreifen. Man dürfte a priori voraussetzen, daß die biologische Reaktion zwischen Endotoxinen und Endolysinen unter gewissen Verhältnissen im Organismus günstig verlaufe, auch da, wo die Versuche in vitro versagen. Die größere Lebensdauer und Aktivität der Leukocyten muß dazu beitragen, ihre bakterienfeindliche Wirkung zu erhöhen.

Versuche mit Leukocyten und Leukocytenextrakt.

I. Homologe[4]) Leukocyten.

Die Pneumokokken habe ich aus Sputum typischer Fälle von akuter, croupöser Pneumonie reinkultiviert. Nach mikroskopischer Prüfung eines

1) Denys, Kaisin, Havet, Hektoen, Bail, Weil, Gruber, Futaki Tsudi (zit. nach Pettersson).

2) Centralbl. f. Bakt. 1903 u. folg. Jahre.

3) Siehe bei den im folgenden nicht mit Literaturangaben zitierten Autoren das Literaturverzeichnis in Kolle-Wassermanns Handbuch.

4) Artgleiche.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gefärbten Präparats wird Sputum subkutan auf Kaninchen injiziert. Wenn das Tier nach einigen Tagen stirbt, wird eine Bouillonkultur (mit Serum, gewöhnlich von Kaninchen, oder Ascites) aus dem Herzblut angelegt, das dann gewöhnlich Pneumokokken in Reinkultur enthält. Manchmal wurde auch die Kultur aus Blut vom Ohre eines lebenden Kaninchens mit Pneumokokken-Sepsis angelegt. Um die Pneumokokken längere Zeit bei hoher Virulenz zu erhalten, werden (nach Foà) von dem an Pneumokokken-Sepsis gestorbenen Kaninchen fließendes Blut und die im Herzen und den angrenzenden Gefäßen befindlichen Blutkoagula gesammelt, auf einige sterile Zentrifugenröhren verteilt und in diesen im Eisschrank verwahrt. Von diesem Blut wird am Tage vor dem Versuche ein Bruchteil einer Oese entnommen und im Serumbouillonrohr verteilt. Am Tage darauf zeigt die Kultur eine gleichmäßige, feine Trübung ohne größeren Bodensatz, und es wird mikroskopisch Reinkultur im gefärbten Präparat konstatiert. Außer dem typischen morphologischen Aussehen: längliche, eventuell am Ende zugespitzte, gramfeste Diplokokken, der Kapselbildung in Präparaten von Blut mit Tusche und verdünntem Karbolfuchsin nach Neufeld und mit Rosenows Kapselfärbung, habe ich auf Löslichkeit in Galle oder in Natrium-Taurocholat geprüft.

Die Exsudatleukocyten erhielt ich (nach den Methoden von Buchner, Schattenfroh u. a. m.) durch intraperitoneale Injektion von Aleuronatbrei (Modifikation nach Pettersson mit Zusatz von Kartoffel- und Weizenkleister, sowie Tuberkelbacillen-Bouillon) und tags darauf folgende Ausspülung der Peritonealhöhle mit steriler Citratlösung. Darauf Zentrifugieren und Waschen des Exsudats mit physiologischer Kochsalzlösunng, sowie im gefärbten Präparat mikroskopisches Konstatieren der Sterilität jedes einzelnen Tieres, worauf die Leukocyten von den verschiedenen Tieren gemischt werden. Beim Versuch ist beim jedesmaligen Verdünnen der Leukocytenmasse zu beachten, daß sie, als Zeichen der Vitalität, einen zusammenhängenden, schleimigen Klumpen bildet. Es werden höchstens einige Stunden alte Leukocyten verwendet. Die Verfahrungsweise ist von Kling ausführlich beschrieben worden (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1910).

Zuerst stellte ich Versuchsserien an, in welchem gewisse Quantitäten von Leukocyten gegen bestimmte Mengen von Pneumokokkenkultur geprüft wurden. Die Versuchsanordnung war so, daß die Leukocytenmasse unmittelbar vor der Infektion in einem Reagensglas gut mit der Kultur gemischt wurde, eventuell mit Bouillon (Serumbouillon) bis auf eine Kubikzentimer-Gesamtquantität verdünnt, die subkutan unter die Rückenhaut injiziert wurde. Wo kein Gewicht angegeben ist, wogen die Versuchskaninchen zwischen 1 und 2 kg. Gleichzeitig wurde Kontrolltieren, von demselben oder etwas höherem Gewicht, nur Kultur und die entsprechende Menge Bouillon injiziert.

Die erste Untersuchung umfaßt 16 Serien von Versuchen an Kaninchen mit Kaninchenleukocyten. Die Tabellen sind unten (p. 541) angeführt. Die Versuche begannen mit 2 und $^1/_{10}$ ccm Bouillonkultur und wurden fortgesetzt mit resp. 0,05 und 0,25, $^1/_{50}$ und $^1/_{100}$, $^1/_{320}$ und $^1/_{640}$, $^1/_{640}$ und $^1/_{1280}$, $^1/_{5120}$, $^1/_{10240}$, $^1/_{81920}$, $^1/_{100000}$, $^1/_{300000}$, $^1/_{600000}$, $^1/_{1200000}$, $^1/_{2400000}$, $^1/_{500}$-Millionstel, $^1/_{1000}$-Millionstel, $^1/_{2000}$-Millionstel ccm.

Die Kulturen wurden im allgemeinen von Herzblut eines im vorhergehenden Versuch gestorbenen Kaninchens angelegt, und hatten in diesen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuchen, die mit demselben Stamm ausgeführt wurden, im letzten Versuch 19 Passagen durchlaufen. Die Anwendung der Kulturen erfolgte, sobald sie völlig ausgewachsen, d. h. ca. 24 Stunden alt, waren. Die Leukocytenmenge variierte zwischen $1^1/_2$ und $^1/_2$ g feuchtes Gewicht, je nach der Ausbeute bei der Entnahme, und betrug im Durchschnitt auf 21 Leukocyteninjektionen etwas über 1 g. Die Tiere starben, mit einer Ausnahme, am 2.—7. Tage, und im Herzblute wurden Pneumokokken in Reinkultur konstatiert. Tabelle I gibt eine Uebersicht über die Länge der Infektion bei den verschiedenen Versuchsserien. Mit Ausnahme der letzten 2 Serien keine größeren Variationen. Während der fortgeführten Untersuchungen können sich zwei, in entgegengesetzter Richtung wirkende Faktoren geltend gemacht haben. Einerseits wurden die Dosen von 0,2 ccm Kultur vermindert, enthaltend, wenn man nach der Verdünnung in den letzten Versuchen rechnen kann, wenigstens 2000 Mill. Kokken abwärts — nach Berechnung der Serumplatte, die mit der kleinsten Dosis gegossen wurde — bis zu einigen 10 Kokken. Andererseits kann die Virulenz während der zahlreichen Tierpassagen möglicherweise gestiegen sein. Die ursprüngliche Kultur wurde aus Herzblut eines mit Pneumokokkensputum subkutan infizierten Kaninchens No. 1 angelegt; es starb am 4. Tage. Die in den letzten Versuchen erreichte Virulenz ist mit derjenigen bei Milzbrandinfektion mit hochvirulentem Stamme vergleichbar, indem kaum mehr als 1 Individuum nötig zu sein scheint, um eine tödliche Septikämie zu verursachen [1]). Selbst in Serie 15, $^1/_2$-Milliardstel ccm (entsprechend 12 Kolonieen in der Serumagarplatte), lebte das eine Tier nur 24 Stunden. In den letzteren Serien (von der 11. ab) lebten die Tiere jedoch im allgemeinen etwas länger, No. 73 (Kontrolltier) in Serie 16 nahezu 6 Tage, und No. 61 (Kontrolltier) in Serie 12 überlebte (s. unten Extraktversuche).

In den Versuchen, wo verschieden große Dosen angewendet wurden, sind die Tiere mit den größeren Dosen mitunter $^1/_2$ Tag vor denen mit kleineren gestorben. In 7 Fällen lebte das mit Leukocyten injizierte Tier etwas länger als die Kontrolle, in 5 Fällen umgekehrt (das Kontrolltier wurde mit etwas größerem Gewicht gewählt). Die Injektionsstelle zeigte, mit Ausnahme der ersten Dosen, wo eine Infiltration mit Pneumokokken lokal beobachtet wurde, keine lokale Reizung, die injizierten Leukocyten waren als käsige Massen liegen geblieben. Ueber der Bauchpartie fand sich in einem Teile der Fälle ein ausgebreitetes, reichliches, sukkulentes, zuweilen schwach hämorrhagisches, subkutanes Oedem. Mennes fand bei Virulenzvermehrung des Pneumokokkenstammes anfangs fibrinöse Pleuritis, später lokal keine Veränderungen.

Als Resultat dieser Versuchsanordnung zeigte es sich, daß die Leukocyten im Tierkörper Pneumokokken nicht effektiv angriffen, doch muß hier erst noch einmal betont werden, daß die Virulenz des Pneumokokkenstammes die höchste bekannte [2]) war. In einigen, gleichzeitig mit diesen Untersuchungen in der medizinischen Staatsanstalt ausgeführten Versuchen hat Lindahl (Hygiea und Arch. f. Augenheilk. 1910) gezeigt,

---

1) Eine ähnliche Virulenz nehmen an: Foà, Emmerich (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 17) 0,00001 ccm, und Mennes. 0,00000001 ccm Blut von Kaninchensepsis tötete bei intravenöser Injektion das größte Kaninchen am 2. Tage.

2) Emmerich hat die Virulenz für Milzbrand (Gabritschewsky) ausgerechnet und entwirft eine Analogie für Pneumokokken.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

daß Leukocyten, in die vordere Kammer des Kaninchenauges eingespritzt, die Fähigkeit besitzen, einer Infektion (durch Phagocytose) der gleichzeitig eingespritzten Pneumokokken daselbst vorzubeugen. Ohne Leukocyten entstand ein heftiger, suppurativer Prozeß im Auge. Es handelte sich hier jedoch nicht um besonders virulente Pneumokokken, und Pettersson fand später mit derselben Methodik, daß virulente Pneumokokken in kleiner Dosis, trotz gleichzeitiger Injektion von Leukocyten in die Kammer, sich unbegrenzt vermehrten und zu letaler Infektion des Tieres führten. Mennes (Zeitschr. f. Hyg. 1897) stellte

Tabelle I.

Versuche mit Leukocyten und Pneumokokken.

	Kaninchen		Kultur in Kubikzentimeter	Tierpassagen	Leukocyten in g	Lebte Tage	Lokal	Im Herzblut bei Sektion
	No.	Gewicht in g						
Serie I	4	.	0,1	1	0	1	Subkutane Infilt. mit Pneumokokken	Pneumokokken
	5	.	0,2	1	0	$1^1/_4$	dgl.	„
	6	.	0,1	1	1	$1^1/_4$	Käsige Massen	„
	7	.	0,2	1	1	$1^1/_2$	dgl.	„
„ II	10	.	0,05	2	0	1	.	„
	11	.	0,025	2	0	$3^1/_2$	.	„
	12	.	0,05	2	0,8	$1^1/_2$	.	„
	13	.	0,025	2	0,8	$3^1/_2$	.	„
„ III	16	.	$^1/_{80}$	3	0	$1^1/_2$	.	„
	17	.	$^1/_{160}$	3	0	$1^1/_2$	.	„
	18	.	$^1/_{80}$	3	1	$2^1/_2$	.	?
	19	.	$^1/_{160}$	3	1	3	.	Pneumokokken
„ IV	22	.	$^1/_{320}$	4	0	2	.	„
	23	.	$^1/_{640}$	4	0	$1^1/_2$	.	„
	24	.	$^1/_{320}$	4	1	2	.	„
	25	.	$^1/_{640}$	4	1	2	.	„
„ V	28	.	$^1/_{640}$	5	0	1	.	„
	29	.	$^1/_{1280}$	5	0	1	.	„
	30	.	$^1/_{640}$	5	1	1	.	„
	31	.	$^1/_{1280}$	5	1	3	.	?
„ VI	33	980	$^1/_{5120}$	6	0	2	.	Pneumokokken
	34	950	$^1/_{5120}$	6	1	1	.	„
	35	920	$^1/_{5120}$	6	0	$1^1/_2$	.	„
	36	920	$^1/_{5120}$	6	1 + 1 ccm normales Kaninchenserum	$1^1/_2$	.	„
„ VII	38	1010	$^1/_{10240}$	7	0	1	.	„
	39	1000	$^1/_{10240}$	7	$1^1/_2$	1	.	„
„ VIII	41	.	$^1/_{80000}$	8	0	$1^1/_2$	.	„
	42	.	$^1/_{80000}$	8	0,8	$1^1/_2$	.	„
„ IX	44	.	$^1/_{160000}$	9	0	2	.	„
	45	.	$^1/_{160000}$	9	0,9	2	.	„
„ X	51	.	$^1/_{300000}$	9	0	2	.	„
	52	.	$^1/_{300000}$	9	1,2	2	.	„
„ XI	56	.	$^1/_{600000}$	9	0	$3^1/_4$	.	„
	57	.	$^1/_{600000}$	9	1,4	$3^1/_2$	.	„
„ XII	61	.	$^1/_{1200000}$	10	0	überlebte	.	—
	62	.	$^1/_{1200000}$	10	0,8	2	.	?

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	Kaninchen		Kultur in Kubikzentimeter	Tierpassagen	Entsprechende Anzahl Kolonieen	Leukocyten in g	Lebte Tage	Im Herzblut bei Sektion
	No.	Gewicht in g						
Serie XIII	64	1590	$^1/_{2400000}$	10	.	0	3	Pneumokokken
	65	1550	$^1/_{2400000}$	10	.	1,25	$2^1/_2$	„
„ XIV	70	1275	$^1/_{500}$-Mill.	15	12	0	$1^1/_2$	„
	71	1075	$^1/_{500}$ „	15	12	0,5	1	„
„ XV	73	1400	$^1/_{1000}$ „	16	10	0	$5^1/_2$	„
	74	1350	$^1/_{1000}$ „	16	10	0,9	$3^1/_2$	„
„ XVI	76	1225	$^1/_{2000}$ „	19	.	0	2	„
	77	990	$^1/_{2000}$ „	19	.	1	3	„

mit Denys' und Leclefs Methodik fest, daß Kaninchenleukocyten in Kaninchenserum das Wachstum der Pneumokokken nicht hindern. Huber (Berlin. klin. Wochenschr. 1903) hat dies mit Leukocyten vom Menschen bestätigt und auch festgestellt, daß avirulente Pneumokokken in Normalserum phagocytiert werden. Zade (Zeitschr. f. Immunitätsf. 1909) hat mit Wrights Opsonintechnik und Leukocyten vom Menschen nachgewiesen, daß avirulente Pneumokokkenstämme, die leicht phagocytabel waren, durch Mauspassagen gleichzeitig mit der gesteigerten Virulenz schrittweise geringer und nicht-phagocytabel wurden in Serum von Mäusen und vom Menschen. E. C. Rosenow (Journ. infect. Dis. 1906) hat mit einer besonderen Modifikation von Wrights Technik, wobei die Leukocyten in einer kleinen Schüttelmaschine in der Flüssigkeit suspendiert gehalten wurden, 36 virulente Pneumokokkenstämme untersucht, die nicht phagocytiert wurden; nach Kultur auf künstlichem Substrat aber wurden sie schnell phagocytabel. Diese Untersuchungen ergeben sonach, daß Pneumokokken mit steigender Virulenz immer schwerer phagocytiert werden. Bei gewissem geringeren Grad, wo sie jedoch schon Kaninchen infizieren, werden sie im Tierkörper bei Versuchen mit Petterssons Methodik phagocytiert (Lindahl), und da sie ebenfalls bei auch geringerer Virulenz schon Mäuse infizieren, werden sie, wenn auch weniger intensiv, bei Reagenzglasversuchen phagocytiert (Zade). Bei maximal hoher Virulenz kann auch mit Petterssons Methode eine Einwirkung der Leukocyten auf Pneumokokken im Kaninchenkörper, selbst unter diesen anscheinend günstigen Verhältnissen, nicht nachgewiesen werden, im Gegensatz zum Verhältnis bei der Milzbrandinfektion.

II. Versuche mit Leukocytenextrakt.

Bei der Analyse der bakterienfeindlichen Eigenschaften der Leukocyten dachte man sich diese gern zum Plasma sezerniert, gleichwie das Komplement von den Leukocyten spendiert wurde[1]). Aber allgemeingültiger mag man die spezifischen leukocytären Bakterizide im Buchnerschen Gefrierextrakt zu fassen bekommen, wie Pettersson in einer Reihe von Arbeiten über die Endolysine, und zwar, wie oben erwähnt, auch für Strepto- und Pneumokokken nachgewiesen hat.

Ich habe, parallel mit einem Teil der vorangegangenen Leukocytenexperimente, an Kaninchen Versuche mit gleichzeitiger subkutaner In-

1) Daß die bakteriziden Leukocytenstoffe zum 5-proz. Serum abgegeben werden (Schneider), haben Lindahl für Staphylokokken und andere für B. typhi bestätigt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

jektion von Pneumokokken und Leukocytenextrakt angestellt. Die Anordnung erfolgte analog mit diesen (Tabelle II). Die Dosen enthielten, in Kubikzentimeter Pneumokokkenbouillon berechnet, $^1/_{600000}$, $^1/_{3000000}$, $^1/_{1280000}$, $^1/_2$-Millionstel, $^1/_4$-Millionstel, $^1/_{16}$-Millionstel, $^1/_{80}$-Millionstel, $^1/_{200}$-Millionstel, $^1/_{500}$-Millionstel.

Die 4. und die letzte Dosis entsprachen 500, resp. 7 Kolonieen in der Serumagarplatte. Der Pneumokokkenstamm war derselbe; er hatte in der ersten Serie 10 und in der letzten 15 Kaninchenpassagen durchgemacht. Das Extrakt wurde aus 0,6—1,5 g Leukocyten bereitet; im Durchschnitt etwas unter 1 g feuchtes Gewicht Exsudatleukocyten, in gewöhnlicher Weise erhalten und geprüft, durch 5-faches Einfrieren in Kältemischung und Auftauen in lauem Wasser mit gleichen Teilen Serumbouillon.

Die Virulenz der Kokken dürfte in diesen Versuchen schon von Anfang an so hoch gewesen sein, daß in den letzteren eine beträchtliche Steigerung vielleicht nicht eintrat. In 3 Serien lebte das Tier, welches Extrakt bekommen hatte, etwas länger als die Kontrolle; in 2 Serien war es umgekehrt. In zweien der Serien (III und V) überlebte die Kontrolle und wurde dann zur Immunisierung angewandt (siehe Mitteilung II); in Serie VII überlebte das Extrakttier.

Gleichzeitig mit diesen Extraktversuchen wurden mit einem Teil der Extraktflüssigkeit Bakterizidieversuche in Serumagarplatten angestellt (siehe unten).

Tabelle II.
Versuche mit Leukocytenextrakt und Pneumokokken.

	Kaninchen		Kultur			Extrakt von Leukocyten in g	Lebte Tage	Im Herzblut bei der Sektion
	No.	Gewicht g	Kubikzentimeter	Anzahl Kolonieen	Generationen			
Serie I	80	1370	$^1/_{600\,000}$	.	10	0	$5^1/_2$	Pneumokokken
	81	1250	$^1/_{600\,000}$	.	10	1,5	$2^1/_2$	„
„ II	83	.	$^1/_{300\,000}$	.	11	0	$2^1/_2$	„
	84	.	$^1/_{300\,000}$	.	11	0,5	4	„
„ III	86	2170	$^1/_{1}$ $^1/_4$-Mill.	.	11	0	überlebte	
	87	1600	$1^1/_4$ „	.	11	0,8	$2^1/_2$	„
„ IV	89	1500	$^1/_2$ „	500	12	0	2	„
	90	1000	$^1/_2$ „	500	12	1	3	„
	91	2000	$^1/_4$ „	240	12	0	2	„
	92	1500	$^1/_4$ „	240	12	1	3	„
„ V	94	1625	$^1/_{16}$ „	.	14	0	überlebte	
	95	1600	$^1/_{16}$ „	.	14	0,6	$5^1/_2$	?
„ VI	98	1650	$^1/_{80}$ „	.	14	0	3	Pneumokokken
	99	1625	$^1/_{80}$ „	.	14	1	3	
„ VII	104	.	$^1/_{500}$ „	7	15	0	2	„
	105	.	$^1/_{500}$ „	7	15	1,1	überlebte	

Der Ausgang dieser Experimente ist ein weiterer Beweis für die Inkongruenz zwischen in vitro- und in vivo-Versuchen. Während sich die bakteriziden Leukocytensubstanzen gegen Pneumokokken in der gewöhnlichen Versuchsanordnung im Reagensglas — wie in Pettersons u. a. obenerwähnten Versuchen und in den unten angeführten — nachweisen lassen, kommt diese Wirkung bei Anwendung der Versuche auf die Verhältnisse bei subkutaner Injektion der enthaltenen Elemente in den Tierkörper nicht zum Vorschein. Vielleicht wird die Mischung durch Serumzufluß so schnell verdünnt, daß die erforderliche

Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Konzentration verloren geht. Durch zahlreiche Versuche weiß man, daß die Endolysine einer ziemlich langen Zeit bedürfen, ehe die Wirkung in Erscheinung tritt, im Gegensatz zu der nahezu augenblicklichen Wirkung der Bakteriolysine. In Petterssons Untersuchungen über Milzbrandinfektion an Kaninchen zeigten Extraktinjektionen von Kaninchenleukocyten zwar deutliche Schutzwirkung, jedoch schwächer als die von lebenden Leukocyten.

Die Virulenz bei Pneumokokken war in diesen Versuchen deutlich ebenso hoch, wie in den vorhergehenden und desgleichen in den Serien II—IV in Tabelle III, wo ein anderer Pneumokokkenstamm zur Anwendung kam. Die Berechnung durch Verdünnung und Kultur in Platten gibt bei diesen Untersuchungen vielleicht nicht einen getreuen Ausdruck für die Dichtigkeit der Ursprungskultur — ich habe die Versuchsfehler nicht genauer untersucht — dagegen dürfte sie aber ein ganz exakter Ausdruck für die Anzahl entwickelungsfähiger Pneumokokken in den stärkeren Verdünnungen sein. In Tabelle III ist ein Vergleich zwischen Pneumokokkeninfektionen in subkutaner Injektion mit gleichzeitiger Einführung von Leukocyten und denselben Infektionen mit gleichzeitiger Extraktinjektion ausgeführt.

Tabelle III.
Vergleich zwischen Leukocyten und Leukocytenextrakt.

	Kaninchen		Kultur			Leakocyten in g	Extrakt von g Leukocyten	Lebte Tage	Gewicht nach dem Tode	Im Herzblut bei der Sektion
	No.	Gewicht g	Kubikzentimeter	Anzahl Kolonieen	Generationen					
Serie I	108	1400	$^1/_{32}$ -Mill.	.	13	0	0	2	.	Pneumokokken
mit demselben	109	1250	$^1/_{32}$ „	.	13	1	0	1	.	„
Pneumokokkenstamm wie in Tab. II	110	1300	$^1/_{32}$ „	.	13	0	1	$1^1/_2$	.	„
Serie II	113	1700	$< ^1/_{1000}$ „	33	.	0	0	4	1580	„
mit einem anderen Pneumokokkenstamm	114	1450	$< ^1/_{1000}$ „	33	.	1	0	2	1380	„
	115	1200	$< ^1/_{1000}$ „	33	.	0	1	2	1090	„
Serie III	121	1950	$< ^1/_{1000}$ „	8	.	0	1	10	1680	0
Pneumokokkenstamm wie in Serie II	122	1700	$< ^1/_{1000}$ „	8	.	1	0	3	1510	Pneumokokken
Serie IV	125	1670	$^1/_{700}$ „	.	.	0	0	3	1625	„
Pneumokokkenstamm wie in Serie II	126	1450	$^1/_{700}$ „	.	.	1,25	0	3	1400	„
	127	1400	$^1/_{700}$ „	.	.	0	1,25	3	1240	„

In einer der Serien mit dem anderen Pneumokokkenstamm lebte das mit Leukocytenextrakt injizierte Tier, Kaninchen 121, ungewöhnlich lange, 10 Tage mit sukzessiver, aber relativ mäßiger Abmagerung — 1950, 1875, 1850, 1830, 1790, 1675 und 1680 g — und also am letzten Tage sogar mit einer kleinen Zunahme. Bei der Sektion konnten im Herzblut keine Pneumokokken, weder direkt, noch in Kultur nachgewiesen werden. Es ist jedoch möglich, daß in dem einen oder anderen Organ noch Pneumokokken lebten. Bei Septikämieen pflegen die Tiere nicht zu sterben, ohne daß sich lebendes Virus im Körper vorfindet, im Gegensatz zu den toxämischen Infektionen. Man würde indessen sonst

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

vielleicht geneigt sein, diesen Umstand gerade der Leukocytenextraktwirkung zuzuschreiben, wenn es sich bei diesen minimalen Dosen nicht zeigte, daß ab und zu ein Tier überlebte, und das fragliche Tier, No. 121, könnte so einen Grenzfall zu den überlebenden bilden. In der Leukocytenserie XII überlebte sonach die Kontrolle, Kaninchen 61, und in den Extraktserien III und V die Kontrollen, Kaninchen 86 sowie 94 und das Extrakttier in der letzten Serie, Kaninchen 105. Das letztgenannte dürfte unter denselben Voraussetzungen wie oben auf Konto der Extraktwirkung geführt werden können. Bei einem Vergleich dieser Versuche im Großen mußte es aber als die natürliche Erklärung erscheinen, daß bei starken Verdünnungen — in diesen Versuchen unter 0,00001 bis 0,000001 ccm Kultur — ein Teil der Tiere wegen der schwankenden individuellen Widerstandskraft die Infektion überwindet. Aehnliche Beobachtungen hat Pettersson bei Milzbrandinfektionen an Kaninchen mit Dosen unter 0,0001 Oese gemacht und hält es für wahrscheinlich, daß die erhöhte Widerstandskraft auf einen größeren Gehalt an Leukocyten bei den überlebenden Tieren zurückzuführen ist. Bei einer großen Anzahl dieser Kaninchen mit Pneumokokkensepsis zählte ich während des Infektionsverlaufes die Leukocytenanzahl. Nach einem Anfangswert von 7000—8000 sanken die Zahlen regelmäßig gegen das Ende bis unter 1000.

III. Versuche mit heterologen Leukocyten.

Die Leukocyten werden von vielen Untersuchenden als eine konstante Größe betrachtet, und zahlreiche Beobachtungen sprechen für eine weitgehende Einheitlichkeit in ihren Eigenschaften. Es gibt jedoch auch Beobachtungen über Unterschiede zwischen Leukocyten verschiedenen Ursprungs. So findet Pettersson bei Immunisierung gegen Milzbrand mit Immun- und Normalleukocyten beim Hund einen gewissen Unterschied zum Vorteil der ersteren und noch deutlicher mit Vibrio Metschnikoff, und Rosenow ebenso zwischen Pneumonie- und Normalleukocyten. Betreffs der Leukocyten von verschiedenen Tiergattungen konnte man a priori vermuten, daß solche von weniger empfindlichen Tieren besser geeignet seien, der Infektion entgegen zu wirken, als die eigenen bei empfindlichen Tieren. Pettersson hat gezeigt, daß heterologe Exsudatleukocyten von fremdem Serum nicht erheblich geschädigt werden. Ich wählte für diesen Zweck Leukocyten vom Meerschweinchen und vom Hund, welche Tiere gegen Pneumokokkeninfektionen widerstandskräftiger sind.

Mit Meerschweinchenleukocyten wurden 2 Versuchsserien gemacht; die Kultur war von demselben Stamm wie in der ersten Versuchsserie und hatte 13 Tierpassagen durchlaufen. Sie war so virulent, daß ein Kaninchen, No. 128, dem ich 9 Uhr vormittags etwa 1 ccm intravenös einspritzte, am selben Tage 5 Uhr nachmittags (in Krämpfen) starb. Mennes erwähnt intravenöse Infektionen mit geringeren Dosen und einem Verlauf von 12 Stunden, Wadsworth mit 5 ccm und einem Verlauf von 12 Stunden. Die Dosen waren $^1/_{100\,000}$ und $^1/_{100}$-Millionstel; letztere entsprach 384 Kolonieen in der Platte. Die Leukocyten wogen 1,5, resp. 1 g; in letzterem Versuch wurde ein Tier gleichzeitig mit Leukocytenextrakt von 2 g Leukocyten injiziert. Die Tiere lebten im ersten Versuch 3 Tage, im zweiten (Kontrolle und Extrakttier) 1 Tag, das Leuko-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

cytentier $3^1/_2$ Tage. Gleichzeitig wurden Bakterizidieversuche in der Agarplatte angestellt (siehe unten).

Im folgenden Versuch wandte ich Leukocyten vom Hunde an. Da das Exsudat recht hämorrhagisch war, wurde es, gut mit Kochsalz verdünnt, in einen hohen Zylinder gelassen, um während einiger Stunden selbst zu sedimentieren, worauf die verschiedenen Schichten mit einer Pipette leicht aufgesaugt und die Leukocyten in gewöhnlicher Weise zentrifugiert werden konnten. Die Dosen waren 1-Millionstel und $^1/_{10}$-Millionstel ccm; letztere entsprach 1600 Kolonieen in der Platte. Die Leukocytendosis wog 1 g und das Extrakt, welches gleichzeitig anderen Tieren, und zwar allen mit derselben Infektionsdosis, injiziert wurde, wurde aus 1 g Hundeleukocyten erhalten. Im ersten Versuche lebten die Tiere: Kontrolle 1 Tag, Leukocytentier 2 Tage; im zweiten Versuche umgekehrt. Die Extrakttiere starben zwischen dem 2. und 3. Tage. Gleichzeitig wurden Bakterizidieversuche in der Serumagarplatte angestellt.

Tabelle IV.

Versuche mit heterologen Leukocyten, resp. Leukocytenextrakt.

	Kaninchen		Kultur			Leukocyten in g	Extrakt von g Leukocyten	Lebte Tage	Im Herzblut bei der Sektion
	No.	Gewicht g	Kubikzentimeter	Anzahl Kolonieen	Generationen				
Serie I	129	.	0.00001	6000	13	0	0	$2^1/_2$	Pneumokokken
Meerschw.-Leukocyten (3 Tiere) Pneumokokken 1. Stamm	130	.	0,00001	6000	13	1,5	0	$2^1/_2$	,,
Serie II	131	1325	$^1/_{100}$-Mill.	384	17	0	0	$3^1/_2$	,,
Meerschw.-Leukocyten	132	1275	$^1/_{100}$,,	384	17	1	0	1	,,
(3 Tiere)	133	1400	$^1/_{100}$,,	384	17	0	1	1	,,
Serie III	134	1450	1 ,,	.	16	0	0	1	,,
Hundeleukocyten	135	1400	1 ,,	.	16	1	0	2	?
Serie IV	136	1360	$^1/_{10}$,,	1600	16	0	0	2	?
Hundeleukocyten (dasselbe Tier wie in Ser. III)	137	1290	$^1/_{10}$,,	1600	16	1	0	1	Pneumokokken
Serie V	138	1250	1 ,,	.	16	0	1	$2^1/_2$	,,
Hundeleukocyten (dasselbe Tier wie in Ser. III)	139	1150	$^1/_{10}$,,	1600	16	0	1	$2^1/_2$	,,

Die Versuche zeigen in diesen starken Verdünnungen der virulenten Pneumokokkenkultur keine Einwirkung der Leukocyten von diesen weniger pneumokokkenempfindlichen Tieren. Bei Milzbrandinfektion hat Pettersson die homologen Leukocyten am wirksamsten bei Infektion von Kaninchen befunden, bei Meerschweinchen aber, wo die homologen relativ schwach wirken, mit Kaninchenleukocyten etwas bessere Resultate erzielt.

IV. Bakterizide Reagensröhrchenversuche mit der Plattenmethode.

Im Vorhergehenden ist mehrfach erwähnt worden, daß bei Entnahme der Exsudatleukocyten ein Teil derselben für Bakterizidieversuche reserviert wurde. Diese sonach gleichzeitig mit den vorhergehenden ausgeführten Versuche sind in Tabelle V zusammengestellt. Nach Vorprobe zwecks Ermittelung der Größe der Aussaat erfolgte in Reagensröhrchen die Mischung einer geeigneten Menge Kultur mit Extrakt einer Leuko-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

cytenquantität, die in den Versuchen zwischen 0,35 und 1 g feuchtem Gewicht wechselte, sowie Mischung einer gleichen Menge Kultur mit Serumbouillon in Kontrollröhrchen. Das Extrakt war, wie oben beschrieben, nach der Buchnerschen Gefriermethode mit Serumbouillon bereitet. Nach unmittelbarer Entnahme der für die ersten Serumagarplatten bestimmten Mischungsmenge aus den Röhrchen wurden letztere bei 37° in den Thermostaten gestellt und in den angegebenen Zeiten aus den Röhrchen neue Platten mit derselben Quantität gegossen.

Tabelle V.
Bakterizide Reagensröhrchenversuche.

	Leukocyten-Tier	Enthielt in den Röhren			Anzahl Kolonieen		
		Pneumokokkenkultur Generationen		Leukocytenextrakt aus g Leukocyten	unmittelbar	nach .. Std.	nach .. Std.
						nach 5 Std.	nach $9^1/_2$ Std.
Versuch 1	Kaninchen 93	—		0	320	320	—
		—		0,35	740	128	2
			Serum-			nach 8 Std.	nach 24 Std.
„ 2	„ 106	13	bouillon	0	250	3 000	∞
	„ 107	13	do.	0,5	640	580	0
						nach 9 Std.	nach 19 Std.
„ 3	„ 96	14	do.	0	1280	64 000	∞
	„ 97	14	do.	0,6	320	0	vereinzelte
						nach 5 Std.	nach 41 Std.
„ 4	„ 100	14	do.	0	—	—	—
		14	do.	0,5	1280	—	0
						nach 6 Std.	nach 18 Std.
„ 5	„ 103	15	do.	0	19	5 900	∞
		15	do.	0,5	24	8	vereinzelte
						nach 2 Std.	nach 5 Std.
„ 6	Meerschw. 4, 5,	17	do.	0	640	640	11 520
	6 und 7	17	do.	0,5	608	96	192
						nach $2^1/_2$ Std.	nach 5 Std.
„ 7	Hund 1	16	do.	0	—	60	6 400
		16	do.	1	320	7	0

Die Versuche zeigen durchgehends, daß, während in den Platten der Kontrollen Pneumokokken sich schnell bis zu einer unbegrenzten Anzahl von Kolonieen vermehren, in den Extraktplatten eine deutliche Abnahme bis auf vereinzelte Kolonieen oder vollständige Unterdrückung des Wachstums eintritt. Die Abnahme tritt aber nicht immer so schnell ein: Die Versuche 1 und 2 zeigen nach 5 und 8 Stunden keine besonders starke Abnahme, sondern erst später. In Versuch 3 trat erst nach 9 Stunden „Sterilität" ein, und nach 19 Stunden traten wieder vereinzelte Kolonieen auf. Petterssons oben erwähnte Untersuchungen ergaben ähnliche Resultate; sie umfaßten u. a. einen Pneumokokkenstamm mit einer Virulenz von 0,00001 Oese. Auch Lindahls Untersuchungen enthalten derartige Versuche mit ähnlichen Resultaten; der Pneumokokkenstamm war die 2. Ascitesbouillonkulturgeneration von pneumonischem Sputum.

In Versuch 6, Tabelle V, ist ebenfalls eine deutliche, wenn auch weniger intensive Einwirkung des Meerschweinchenleukocytenextraktes sichtbar. Die Beobachtungszeit war hier jedoch vielleicht zu kurz, um

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

beurteilen zu können, ob die beginnende Vermehrung nach 5 Stunden eine zufällige war. Versuch 7 zeigt eine starke bakterizide Wirkung des Hundelleukocytenextraktes.

Aus diesen Versuchen geht sonach hervor, daß die Kaninchen-, Meerschweinchen- und Hundeleukocyten bakterizide Stoffe auch gegen Pneumokokken mit maximaler Virulenz enthalten. Sie lassen sich aber nicht durch die gleichzeitige subkutane Injektion der Exsudatleukocyten, bezw. des Extraktes am Kaninchen nachweisen (im Gegensatz zu den Verhältnissen bei der Milzbrandinfektion). Die Leukocyten sind somit, wenn die Phagocytose, wie bei maximal virulenten Pneumokokken, versagt, gegen die Keime völlig unwirksam. Daraus folgt, daß die maximal virulenten Pneumokokken nur innerhalb der Leukocyten und nicht außerhalb derselben durch irgendwelche sezernierte Substanzen vernichtet werden.

Es sei mir hier gestattet, meinem verehrten Chef, Herrn Prof. Dr. Alfred Pettersson, meinen Dank auszusprechen, welcher mir das Thema vorgeschlagen, mir mehrere Jahre einen Arbeitsplatz und Material angewiesen hat und welcher für mich ein hohes Vorbild in wissenschaftlichem Denken und Arbeiten gewesen ist.

Nachdruck verboten.

Eine einfache Methode zur Gewinnung von Leukocyten.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Deutschen Medizinschule in Schanghai (Leiter: Priv.-Doz. Dr. Dold).]

Von **Hermann Dold.**

Zur Gewinnung von Leukocyten für experimentelle Zwecke kommen 2 Methoden in Frage, einmal die Gewinnung durch Auszentrifugieren aus dem flüssigen Blut und zweitens die Gewinnung durch Injektion von Leukocyten-anlockenden Mitteln. Von letzteren werden hauptsächlich peptonhaltige Substanzen (Peptonlösungen, Bouillon etc.) und Lösungen oder Aufschwemmungen von artfremdem Eiweiß (besonders Aufschwemmungen von Aleuronat) verwendet.

Es ist klar, daß jede Leukocyten-anlockende Substanz zur Erzeugung von Leukocytenansammlungen dienen kann. Auch der art- und körpereigene Gewebesaft besitzt stark Leukocyten-anlockende Wirkungen, wie von mir und Rados[1]) gezeigt worden ist. Wir konnten durch Injektion von sterilem art- und körpereigenen, wässerigen Organextrakt in die vordere Augenkammer oder in die Hornhautlamellen von Versuchstieren (Kaninchen, Meerschweinchen) alle Grade von Entzündung erzeugen. Später habe ich auch mit Hilfe der von Bürger und mir[2]) angegebenen Methode der Kniegelenksinjektionen bei Kaninchen und Meerschweinchen die stark leukotaktischen Wirkungen der verschiedensten art- und körpereigenen Organextrakte demonstrieren können.

1) Dold u. Rados, Dtsch. med. Wochenschr. 1913. No. 31 u. Zeitschr. f. d. ges exper. Med. Bd. 2. 1913. H. 3.

2) Bürger u. Dold, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 21. 1914. H. 1/5.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mit diesem Nachweis der leukotaktischen Wirkung des körpereigenen Zell- und Gewebesaftes war unter anderem auch eine Erklärung für die sogenannte traumatische, sterile Entzündung gegeben, indem nämlich als Ursache für die Leukocytenansammlung an der Stelle des Traumas weniger der traumatische Reiz, als vielmehr der infolge des Traumas aus seinen natürlichen Hüllen und präformierten Kanälen austretende Zell- und Gewebesaft erkannt wurde.

Damit war auch der Gedanke nahegelegt, durch Injektion von destilliertem Wasser, welches infolge osmotischer Störungen die Zellen zum Platzen bringt und so den Austritt von Zell- und Gewebesaft verursacht, Leukocytenansammlungen zu bewirken.

Um die Richtigkeit dieser Vermutung zu erweisen, wurden folgende Versuche gemacht:

Injektion von sterilem, destillierten Wasser in Kniegelenke.

Je einem normalen Kaninchen und Meerschweinchen wurde steriles, destilliertes Wasser, in Mengen von 2 bzw. $^1/_2$ ccm, in beide Kniegelenke gespritzt. (Beschreibung der Methode siehe Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 21. 1914. H. 1/5.

Nach 24 Stunden wurden die Tiere entblutet und die Gelenke unter Wahrung aseptischer Kautelen eröffnet. In allen Fällen entleerte sich teils spontan, teils sofort auf leichten Druck auf die Gelenkrecessus reichlicher, ziemlich dickflüssiger Eiter. Die sofort angelegten Kulturen erwiesen sich am folgenden Tage als steril. Die in der Thoma-Zeiss-schen Zählkammer vorgenommene Zählung der in den Exsudaten vorhandenen Leukocyten ergab: bei den Kaninchen die Zahlen 60000 und 80000 pro Kubikmillimeter, bei den Meerschweinchen 40000 und 48000 pro Kubikmillimeter.

Injektion von sterilem, destillierten Wasser in die Brust- und Bauchhöhle.

In ähnlicher Weise wurde 2 Kaninchen und Meerschweinchen steriles, destilliertes Wasser in Mengen von 6 bzw. 3 ccm in die Brusthöhle gespritzt. Selbstverständlich wurde dabei auch wieder unter Wahrung aller aseptischen Kautelen vorgegangen. Nach 24 Stunden wurden die Tiere getötet (durch Entbluten) und dann die Brusthöhlen eröffnet.

In allen Brusthöhlen fanden sich eiterige Exsudate; die bakteriologische Untersuchung ergab Sterilität. Die Zahl der in den Exsudaten enthaltenen Leukocyten betrug bei den Kaninchen 120000 und 148000 pro Kubikmillimeter, bei den Meerschweinchen 96000 und 100000 pro Kubikmillimeter.

Diese Versuche (Injektion von sterilem, destillierten Wasser in die Brusthöhle) wurden noch an einer weiteren Anzahl von Tieren wiederholt, jedesmal mit demselben Ergebnis. Auch wurden Injektionen von sterilem, destillierten Wasser in die Bauchhöhle vorgenommen, und auch hier war das Ergebnis die Ansammlung einer reichlichen Menge von Leukocyten.

Nicht selten kommt es vor, daß die exsudierte Flüssigkeitsmenge gering ist, so daß man, wie dies ja auch bei den anderen Methoden üblich ist, mit Hilfe von steriler physiologischer Kochsalzlösung die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Leukocyten herausspülen muß. Auf diese Weise, die sich übrigens in jedem Falle empfiehlt, erhält man immer mit Leichtigkeit große Mengen von Leukocyten.

Man konnte befürchten, daß die auf diese Weise gewonnenen Leukocyten die Fähigkeit, zu phagocytieren, ganz oder wenigstens teilweise eingebüßt haben, da Hamburger ja gezeigt hat, daß die Freßzellen in hypotonischen Lösungen in ihrer Funktion beträchtlich gestört werden. Dies ist aber bei den nach unserer Methode gewonnenen Leukocyten, wie uns das Experiment gelehrt hat, nicht der Fall. Wir haben uns davon überzeugt, daß die durch destilliertes Wasser gewonnenen Leukocyten die Fähigkeit, zu phagocytieren, in demselben Grade, wie anderswie erhaltene Leukocyten besitzen. Dies ist auch gar nicht verwunderlich, wenn man sich vergegenwärtigt, auf welche Weise es zur Ansammlung von Leukocyten nach Injektion von destilliertem Wasser kommt. Das letztere wirkt ja gar nicht direkt auf die Leukocyten anlockend, sondern, indem es die Zellen, mit denen es in Berührung kommt, zum Platzen bringt, macht es erst den leukotaktisch wirkenden Zell- und Gewebesaft frei, wobei es selbst sofort seine Hypotonie verliert und zu einer isotonen Flüssigkeit wird.

Nachdruck verboten.

Ueber Choleraelektivnährböden.

[Aus der bakteriol. Abteilung der hygienisch-chemischen Untersuchungsstelle beim Sanitätsamte V. Armeekorps in Posen.]

Von

Stabsarzt Dr. **Karl Baerthlein,** Hygieniker beim II. bayerischen Armeekorps, komm. zum Sanitätsamte V. Armeekorps, und Stabsarzt d. L. Dr. **E. Gildemeister,** wissenschaftlichem Mitgliede des Kgl. Hygienischen Instituts in Posen, Hygieniker beim Sanitätsamte V. Armeekorps.

I.

Für die Züchtung von Choleravibrionen hat zuerst Heim die Mitbenutzung von Blut bei diesen Nährböden vorgeschlagen und zunächst durch Zusatz von Blutdekokt zu Peptonwasser eine Verbesserung des Anreicherungsverfahrens erreicht. Weiterhin war es ihm gelungen, auch auf festen Nährböden durch Mischung von Blutkuchendekokten bzw. von Schweine-, Rinder- oder Pferdeblut mit Gelatine oder neutralem Agar eine kräftigere Entwicklung der Choleravibrionen als auf den anderen bisher üblichen Nährmedien herbeizuführen. Diese von Heim angegebenen Blutnährböden besaßen indessen, abgesehen von der auf ihnen beobachteten Steigerung der Wachstumsenergie von Cholera- und choleraähnlichen Vibrionen, keine sonstigen bemerkenswerten Vorzüge, insbesondere keine wesentlichen elektiven Eigenschaften, durch die eine Hemmung bzw. völlige Unterdrückung des Wachstums bei den zahlreichen unerwünschten Begleitbakterien der Cholerastühle zustande gekommen wäre. Auf diesen Umstand ist es wohl auch zurückzuführen, daß diese Nährböden in der Choleradiagnose nicht allgemeine Geltung erlangten, bzw. daß die Heimschen Versuche nicht in weiteren Kreisen Beachtung fanden.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Frage der Choleranährböden trat in ein neues Stadium ein, als es Dieudonné gelang, unter Berücksichtigung der hohen Alkalitoleranz der Choleravibrionen durch Kombination von Alkali und Blut mit 3-proz. neutralem Agar einen ausgezeichneten und jetzt bereits allgemein eingeführten Elektivnährboden für Cholerakeime zu schaffen. Da jedoch der Dieudonnésche Nährboden noch einige in der Praxis störend empfundene Nachteile aufweist, nämlich daß er nicht sofort, sondern erst 18 Stunden nach dem Gießen der Platten verwendbar ist wegen seiner anfänglich zu hohen Elektivität, die auch das Cholerawachstum unterdrückt, ferner daß außer Cholera- und choleraähnlichen Vibrionen auch noch einzelne andere Bakterienarten, insbesondere Bac. faecalis alcaligenes, sich auf dem Blutalkaliagar entwickeln, versuchten eine Reihe von Autoren, durch entsprechende Modifizierung diese beiden Nachteile des Dieudonnéschen Nährbodens auszuschalten. So haben Neufeld und Woithe empfohlen, unmittelbar vor dem Gießen der Platten auf 100 ccm des Blutalkaliagars 2 ccm einer 10-proz. Milchsäurelösung zwecks Bindung des die Entwickelung der Choleravibrionen hemmenden Ammoniaks bzw. zur Neutralisierung eines etwaigen Ueberschusses der nach dem langen Kochen etwa noch vorhandenen Lauge zuzusetzen und auf diese Weise einen nach $^1/_2$-stündigem Trocknen der Platten im Brutschrank bei 60° bereits brauchbaren Nährboden herzustellen. Von Esch wurde an Stelle des Blutes das bereits von Heim für die Züchtung von Choleravibrionen als günstig empfohlene, käufliche Hämoglobin benutzt und ein für den sofortigen Gebrauch verwendbarer Nährboden gewonnen. Pilon, der die Auffassung vertritt, daß die späte Verwendbarkeit des Dieudonnéschen Originalagars nicht auf die Ammoniakentwickelung, sondern auf den Umstand zurückzuführen sei, daß der ursprünglich hohe, für das Wachstum der Cholerakeime schädliche Kalilaugengehalt erst allmählich durch die Kohlensäure der Luft in das die Entwickelung der Vibrionen viel weniger hemmende Karbonat umgewandelt werde, ersetzte mit gutem Erfolge die Kalilauge des Dieudonnéschen Nährbodens durch 12-proz. Sodalösung und benutzte als Blutart vorwiegend defibriniertes Schweineblut. Ein Ersatz der Kalilauge durch Sodalösung erschien um so mehr gerechtfertigt, als nach den Untersuchungen von Deelemann die hohe Alkalitoleranz der Choleravibrionen sich weit weniger bei Benutzung der Kalilauge als vielmehr bei Verwendung von Soda geltend macht, von der Cholerakeime etwa die dreifache Menge wie andere Bakterienarten (Coli, Typhus) vertragen können. Weiterhin haben Hoffmann und Kutscher den Dieudonnéschen Originalnährboden im Faust-Heimschen Apparat getrocknet, so daß der Nährboden in ein braunes, ziemlich grobkörniges, lange Zeit haltbares Pulver verwandelt wird und nach erneuter Auflösung in Wasser und $^1/_2$-stündigem Kochen im Dampftopf sofort verwendbar ist. Moldavan will durch das Mischungsverhältnis von Blutalkali und Agar 1 : 4 statt 3 : 7 einen bereits nach 6 Stunden, also gerade nach Ablauf der 1. Anreicherungsperiode der Cholerastuhlproben in den Peptonwasserröhrchen, verwendbaren Dieudonné-Agar erzielt haben.

Die vorstehend erwähnten Nährböden bzw. Modifikationen wurden von Haendel und Baerthlein in umfangreichen, vergleichenden Untersuchungen auf ihre Leistungsfähigkeit geprüft; es wurden dabei folgende Feststellungen gemacht. Auf sämtlichen Nährböden entwickelten im allgemeinen Choleravibrionen reichlich ziemlich große, flache Kolonieen;

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

speziell auf dem modifizierten Choleraagar von Neufeld und Woithe bzw. von Moldavan wurde jedoch trotz genauer vorschriftsmäßiger Herstellung in einzelnen Fällen auch das Wachstum echter Cholerakeime unterdrückt. Hinsichtlich der Elektivität gegenüber anderen, insbesondere Stuhlbakterien, bestanden zwischen den einzelnen Nährböden recht beträchtliche Unterschiede. Wenn man von den wegen der Unsicherheit des Wachstums echter Cholerastämme nicht gerade empfehlenswerten Modifikationen von Neufeld und Woithe, bzw. von Moldavan absieht, so erwiesen sich bezüglich der Wachstumshemmung von Stuhlbakterien der Dieudonnésche Originalagar und der von Hoffmann und Kutscher angegebene getrocknete Dieudonnésche Nährboden als die zuverlässigsten und brauchbarsten Nährmedien, obwohl das auf ihnen häufig beobachtete Wachstum von Bac. faecalis alcaligenes bei der Diagnosenstellung in gewissem Grade als störend empfunden wurde. Ihnen am nächsten kommt der Pilonsche Nährboden, auf dem jedoch außer Vibrionen und Alcaligenes noch Proteus und einzelne der Coli-Gruppe angehörige Kulturen sich entwickelten. Am wenigsten günstig lagen die Verhältnisse bei dem Hämoglobinagar nach Esch, auf dem zwar Choleravibrionen recht üppig gediehen, aber nach den eigenen Angaben des Autors auch zahlreiche andere Bakterienarten fast gar nicht im Wachstum gehemmt wurden.

In letzter Zeit wurden die Versuche, noch vorteilhaftere Elektivnährböden für Cholera zu gewinnen bzw. die beiden oben erwähnten Nachteile des Dieudonnéschen Originalagars (späte Verwendbarkeit und Wachstum von Alcaligenes) ganz oder teilweise auszuschalten, von verschiedenen Seiten fortgesetzt und u. a. von Hofer und Hovorka, bzw. von Kabeshima neue Blutnährböden angegeben.

Da uns reichlich Gelegenheit geboten war, frische Cholerastühle zu erhalten, so schien es uns von Interesse, vergleichende Untersuchungen über die Elektivität des Dieudonnéschen Originalagars und dieser neuen Nährböden mittels echter Cholerastühle vorzunehmen, zumal die Mehrzahl der bisherigen Prüfungen von Choleraelektivnährböden sich auf die Verwendung von künstlichen Cholerastuhlgemischen beschränken mußte und so nur ein unvollständiges Bild von der Leistungsfähigkeit der Choleranährböden geben konnte. Außer dem bereits in der Praxis wohl bewährten Dieudonnéschen Originalagar wählten wir für unsere Untersuchungen noch die von Pilon angegebene Modifikation, die dem Originalnährboden hinsichtlich der Elektivität ziemlich nahekommt, daneben aber den Vorzug der sofortigen Verwendbarkeit besitzt.

Hofer und Hovorka haben bei der Herstellung ihrer Modifikation vor allem eine Steigerung des Blutalkaliagars ins Auge gefaßt und diese durch Zusatz von Kristallviolettlösung zum Dieudonnéschen Nährboden zu erreichen versucht. Ihren Angaben zufolge ist es ihnen gelungen, im Gegensatz zu den gut gedeihenden Cholerakeimen das Wachstum von verschiedenen nichtspezifischen Vibrionen und Darmbakterien, die gelegentlich des bulgarisch-türkischen Krieges aus Cholerastühlen mittels des Dieudonnéschen Nährbodens herausgezüchtet worden waren, auf dem modifizierten Originalcholeraagar vollständig zu unterdrücken. Für die Bereitung dieses Nährbodens wird folgende Vorschrift angegeben: „Zu 3-proz. neutralem Agar, 80 ccm, fügen wir Rinderblut, defibriniert, 4 ccm, Normalkalilauge 16 cm gekocht und zu

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

je 10 ccm der Mischung von Agar und Blutalkali 0,5 ccm einer 0,1-proz. Kristallviolettlösung in Aqua destillata. Die gegossenen Platten sollen zur Konsolidierung nach Möglichkeit 24 Stunden im Brutkasten etwas geöffnet und weitere 12 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten werden." Diesem Nährboden haften leider von vornherein zwei erhebliche Nachteile an, die unseres Erachtens seine Brauchbarkeit für die Praxis, in der namentlich bei den ersten Verdachtsfällen eine möglichst rasche Diagnosenstellung erwünscht ist, stark beeinträchtigen: einmal die späte Verwendbarkeit (erst 36 Stunden nach dem Gießen der Platten!), dann (nach den eigenen Angaben der Autoren) die kurze Haltbarkeit des Nährbodens, die unter Umständen zu starkem Materialverbrauch führen kann.

Kabeshima ging bei der Herstellung seines Nährbodens von der Anschauung aus, daß ein gewisser Mißstand bei der Bereitung der Choleraelektivnährböden auch darin liege, daß das hierzu notwendige, frische Blut oft nicht gleich zu erhalten sei, und griff daher, wie dies bereits Esch vor ihm getan hat, auf den Vorschlag Heims zurück, das Blut durch Hämoglobinpräparate zu ersetzen. An Stelle des von Esch empfohlenen Hämoglobins Merck, das sich in Wasser nur teilweise und erst durch Kochen mit Lauge vollständig auflösen läßt, benutzte er den im Wasser leicht löslichen Hämoglobinextrakt Pfeuffer, der in Form eines dicken, fadenziehenden, schwarzroten Sirups im Handel erhältlich ist; gleichzeitig ersetzte er, wie dies Pilon bereits mit sehr gutem Erfolg bei seinem Nährboden getan hat, die Kalilauge durch kristallisierte Soda. Für die Bereitung des Nährbodens wurde von Kabeshima folgende Anweisung angegeben:

Man bringt 80 ccm im Dampftopf aufgeschmolzenen, neutralen 3-proz. Nähragar in ein Erlenmeyer-Kölbchen, setzt 10 ccm 18-proz. Sodalösung hinzu und kocht diese Mischung etwa 10 Minuten. Wenn dann dieser stark alkalische Nähragar auf etwa 50° abgekühlt ist, fügt man 3 g Hämoglobinextrakt Pfeuffer, in 10 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung aufgelöst, hinzu, und gießt diese Mischung nach guter Vermengung sofort in 7 Petri-Schälchen. Diese läßt man offen stehen, bis der Agar erstarrt ist.

Bei unseren vergleichenden Untersuchungen der Choleraelektivnährböden sind wir in ähnlicher Weise wie Haendel und Baerthlein vorgegangen und haben zunächst die verschiedenen Nährmedien durch Aussaat von Reinkulturen geprüft. Wir benutzten dazu 25 frische, aus dem Stuhl von Cholerakranken isolierte Cholerastämme, und fanden, wenn wir von der Aufschwemmung einer $^1/_5$ Oese Kulturmaterials in 20 ccm Bouillon 1 Oese auf den Platten aussäten, auf dem Dieudonnéschen Blutalkaliagar, auf dem Pilonschen Nähragar und auf der Modifikation von Kabeshima ein gleichmäßig reichliches Wachstum. Was die Größe der einzelnen Kolonieen anlangt, so wuchsen die Cholerakeime auf dem Dieudonnéschen Originalagar in Form von mittelgroßen, saftigen, rauchbraun bis grünlich schimmernden, runden Scheibchen, auf dem Pilonschen Nährboden in Form von mittelgroßen, saftigen, mehr hellgrauen, im Zentrum weißlich getrübten Scheibchen; auf dem Hämoglobinextrakt-Sodaagar von Kabeshima dagegen bildeten die Choleravibrionenstämme auffallend große, matt-hellgraue, undurchsichtige Kolonieen. Während auf beiden erstgenannten Elektivnährböden die Kulturen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

etwas klebrige Konsistenz zeigten, die jedoch keine Verminderung der Agglutinabilität zur Folge hatte, waren die Kolonieen auf dem Kabeshima-Nährboden von „wachsweicher" Beschaffenheit, die ein Abstreifen des Materials sehr leicht gestattete und eine sehr rasche und vollkommene, jedoch streng spezifische Agglutination bedingte. Auf der von Hofer und Hovorka angegebenen Modifikation wurde trotz genauer Einhaltung der von den Autoren angegebenen Vorschrift für die Herstellung des Nährbodens stets das Wachstum der Choleravibrionen vollständig unterdrückt. Da nach den übereinstimmenden Angaben verschiedener Autoren, die sich mit der Nachprüfung des Dieudonnéschen Originalcholeraagars beschäftigt hatten, außer Cholerakeimen auch choleraähnliche Vibrionen, ferner Alcaligenes, Proteus und vereinzelt Pyocyaneus auf diesem Nährboden wachsen sollen, zogen wir von jeder dieser Bakterienarten eine Anzahl Reinkulturen zur Prüfung der oben erwähnten Nährböden heran.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen ist in Tabelle I zusammengestellt.

Was die choleraähnlichen Vibrionen anlangt, so zeigten sie zwar auf den Nährböden von Dieudonné, Pilon und Kabeshima sämtlich ein reichliches, rasenförmiges Wachstum, die Kolonieen waren jedoch durchweg wesentlich kleiner als echte Choleravibrionen und wichen auch bei der Mehrzahl der Stämme in ihrem Farbenton vom Aussehen der Cholerakolonieen beträchtlich ab. Die Hofer-Hovorkaschen Platten blieben sämtlich steril mit Ausnahme der mit Vibrio Finkler beimpften, die einen feinen Rasen von kleinsten, saftigen, blauschwarzen Kolonieen aufwiesen.

Von den 10 Alcaligenes-Reinkulturen bildeten 7 auf dem Dieudonnéschen Blutalkaliagar zahlreiche kleine, graugrüne, undurchsichtige Kolonieen, die mit solchen der Choleravibrionen nur selten zu verwechseln sind. Auf dem Pilonschen Nährboden ließ sich bei 4 Stämmen reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, grünlichgrauen, undurchsichtigen Kolonieen und bei 2 Kulturen noch stellenweise ein hauchförmiger Kolonieenrasen feststellen, während 4 Alcaligenes-Stämme auf dem Nährboden überhaupt nicht angingen. Auffallend war die Wachstumshemmung der Kulturen anf dem Hämoglobinextrakt-Sodaagar, auf dem nur noch 4 von den 10 geprüften Alcaligenes-Stämmen eine spärliche Entwickelung zeigten und sich durch die geringe Größe und die Farbe der Kolonieen mühelos von denen der echten Choleravibrionen unterscheiden ließen. Auf der Nährbodenmodifikation von Hofer und Hovorka kamen Alcaligenes-Kulturen überhaupt nicht zur Entwickelung.

Von 7 zu den Versuchen benützten Pyocyaneus-Stämmen wuchsen 6 ziemlich gleichartig in Form von kleinen, grünlichgrauen, undurchsichtigen Kolonieen, die von einem feinen, zerfließenden Rande umgeben sind, auf dem Dieudonnéschen Blutalkaliagar und der Pilonschen Modifikation, während die Entwickelung der gleichen Kulturen auf dem Nährboden von Kabeshima wesentlich stärker gehemmt, jedoch entgegen den Angaben des Autors ebensowenig wie Alcaligenes-Kulturen völlig unterdrückt wurden. Der nach Hofer und Hovorka hergestellte Nährboden blieb auch bei Aussaat von Pyocyaneus-Stämmen immer steril.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

Bezeichnung des Stammes	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
Vibrio Metschnikoff	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von kleinen rauchbraunen, choleraähnlich. Kolonieen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von kleinen, grünlichgrauen, undurchsichtigen Kolonieen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von kleinen, saftig., matthellgrauen, undurchsichtigen Kolonieen	steril
Vibrio Calcutta 21	Dgl.	Dgl.	Ueppiges Wachstum von kleinen, weißlichgrauen, undurchsichtigen Kolonieen in rasenförmig. Anordnung	„
Vibrio Calcutta 173	„	„	Dgl.	„
Vibrio Cholera Calcutta	„	„	„	„
Vibrio Finkler	Rasenförm. Wachstum von kleinen, olivgrünen, undurchsichtigen Kolonieen	Rasenförm. Wachstum von kleinen, grünlichgrauen, undurchsichtigen Kolonieen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, matthellgrauen, choleraähnlichen Kolonieen	Feiner Rasen von kleinsten, blauschwarz., saftigen Kolonieen
Vibrio Elwers	Feinster, hauchförm. Rasen von kleinst., tautropfenähnlich., farblosen Kolonieen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, olivgrünen, undurchsichtigen Kolonieen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von kleinen, saftig., weißlichgrauen, undurchsichtigen Kolonieen	steril
Vibrio Petersburg 0	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von kleinen, rauchbraunen, choleraähnlich. Kolonieen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von kleinen, graugrünen, undurchsichtigen Kolonieen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von kleinen, saftig., matthellgrauen, undurchsichtigen Kolonieen	„
Vibrio Petersburg 4	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von kleinen, grünlichbraunen, undurchsichtigen Kolonieen	Dgl.	Dgl.	„
Vibrio Petersburg 6	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von kleinen, graubraunen, undurchsichtigen Kolonieen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von kleinen, saftig., weißlichgrauen, undurchsichtigen Kolonieen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von kleinen, saftig., grünlichgrauen, undurchsichtigen Kolonieen	„
Alcaligenes 376	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von kleinen, graugrünen, undurchsichtigen Kolonieen	Ganz vereinzelte kleine, weißlichgraue, undurchsichtige Kolonieen	steril	steril
Alcaligenes 1564	Dgl.	steril	„	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stammes	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
Alcaligenes 42	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von kleinen, graugrünen, undurchsichtigen Kolonieen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von kleinen, grünlichgrauen, undurchsichtigen Kolonieen	An einzelnen Stellen der Platte spärliches Wachstum von kleinen, flach., grauweißlichen, undurchsichtigen Kolonieen	steril
Alcaligenes 1585	Dgl.	Dgl.	Dgl.	„
Alcaligenes 455	„	In der Mitte der Platte hauchförmiges Wachstum von sehr kleinen, graugrünlichen, undurchsichtigen Kolonieen	Rasenförm. Wachstum von sehr kleinen, weißlichgrünen, undurchsichtig. Kolonieen	„
Alcaligenes 481	„	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von kleinen, grünlichgrauen, undurchsichtigen Kolonieen	Vereinzelte, kleine, weißlichgrüne, undurchsichtige Kolonieen	„
Alcaligenes 468	„	Dgl.	steril	„
Alcaligenes 7444	steril	steril	„	„
Alcaligenes 1459	„	„	„	„
Alcaligenes 7483	„	An einzelnen Stellen hauchförm. Wachstum von kleinsten, grünlichgrauen, undurchsichtigen Kolonieen	„	„
Pyocyaneus 18	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von kleinen, grünlichgrauen, undurchsichigen Kolonieen, die von einem feinen, zerfließenden Rande umgeben sind	Wachstum wie auf dem Dieudonnéschen Nährboden	An einzelnen Stellen der Platte feiner, graugrünlicher Kolonieenrasen	steril
Pyocyaneus 6676	Dgl.	Dgl.	Dgl.	„
Pyocyaneus 56	„	„	Wachstum wie auf dem Dieudonnéschen Nährboden	„
Pyocyaneus 372	„	„	An einzelnen Stellen der Platte feiner, graugrünlicher Kolonieenrasen	„
Pyocyaneus 5792	„	„	Wachstum wie auf dem Dieudonnéschen Nährboden	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stammes	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
Pyocyaneus 4790	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von kleinen, grünlichgrauen, undurchsichtigen Kolonieen, die von einem feinen, zerfließenden Rande umgeben sind	An einzelnen Stellen der Platte feiner, hauchförmiger, olivgrüner Kolonieenrasen	An einzelnen Stellen der Platte feiner, graugrünlicher Kolonieenrasen	steril
Pyocyaneus 4303	steril	steril	steril	„
Proteus 1588	steril	steril	steril	steril
„ 1606	„	„	„	„
„ 1609	„	„	„	„
„ 372	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von kleinsten, weißlichgrünen, undurchsichtigen Kolonieen	„	„	„
„ 1628	steril	„	„	„
„ 1779	„	An einzelnen Stellen der Platte üppiges, rasenförm. Wachstum von kleinen, grauweißlichen, glänzenden, undurchsichtigen Kolonieen	„	„
„ 1330	„	steril	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von kleinsten hellgrauen, glänzenden undurchsichtigen Kolonieen	„
„ 1873	„	„	steril	„
„ 4021	„	„	„	„
„ 28	„	„	„	„

Bei 10 verschiedenen Proteus-Kulturen wurde nur in einem Falle, und zwar bei jeweils verschiedenen Stämmen, ein rasenförmiges Wachstum von kleinsten, kümmerlichen Kolonieen auf den Nährböden von Dieudonné, Pilon und Kabeshima beobachtet.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

II.

Nachdem wir so ein Bild über das Wachstum der Choleravibrionen und einiger anderer als Konkurrenzbakterien stark in Betracht kommender Keimarten auf den erwähnten Choleraelektivnährböden erhalten hatten, suchten wir in weiteren Versuchsreihen zunächst darüber Aufschluß zu gewinnen, inwieweit auf den einzelnen Nährmedien die Choleravibrionen bei Aussaat aus den Stühlen von Cholerakranken und -keimträgern sich isolieren lassen. Zu diesem Zwecke wurden von 105 Cholerastuhlproben jeweils 2 Oesen 6—7 Stunden lang in Peptonwasserröhrchen angereichert und dann je 2 Oesen der Anreicherungsflüssigkeit auf den verschiedenen Nährmedien ausgestrichen. Das Ergebnis, welches nach durchschnittlich 16—18-stündiger Bebrütung der beimpften Platten im Brutschrank bei 37° festgestellt wurde, ist in Tabelle II wiedergegeben.

Wie aus Tabelle II ersichtlich ist, gelang der Nachweis der Choleravibrionen entsprechend den Erfahrungen, die bereits Haendel und Baerthlein bei Verwendung mit künstlichen Cholerastuhlgemischen gemacht hatten, mit dem Dieudonnéschen Nährboden auch bei sämtlichen 105 echten Cholerastühlen, und zwar wuchsen die Cholerakeime in Reinkultur bei den 105 Stuhlproben in 59 Fällen, während sich bei 46 Cholerastuhlausleerungen auf den Platten in mehr oder weniger hohem Grade auch Nichtvibrionen entwickelten. Unter den Nichtvibrionen spielte eine wichtige Rolle Bac. faecal. alcaligenes, der in 27 Stuhlproben vorhanden war und auf dem Blutalkaliagar mitunter ein sehr reichliches Wachstum zeigte; daneben gediehen auf dem Dieudonnéschen Nährboden noch verschiedene Kokkenarten, welche indessen durch ihr kümmerliches Wachstum sich ohne weiteres von echten Cholerakolonieen unterschieden, ferner in je einem Falle Y-Ruhrbacillen bzw. Pyocyaneus. Etwas weniger günstig war das Ergebnis der von Pilon angegebenen Modifikation. Bei den 105 Cholerastühlen fielen auf diesem Nährboden die Züchtungsversuche von Cholerakeimen in 99 Fällen positiv, in 6 dagegen negativ aus, eine Erscheinung, die mit den bei Verwendung von künstlichen Cholerastuhlgemischen gemachten günstigen Erfahrungen nicht völlig übereinstimmt und bereits auch von Kabeshima bei seinen wenig umfangreichen Untersuchungen beobachtet wurde. Dieses Ergebnis muß bis zu einem gewissen Grade überraschen, da die Choleravibrionen bei den positiv ausgefallenen Untersuchungen durchweg ein ebenso gutes Wachstum zeigten wie auf dem Dieudonnéschen Originalagar, und ihre Entwickelung von den Begleitbakterien auch nicht mehr beeinträchtigt wurde als auf jenem Nährboden. Es entwickelten sich nämlich bei den 99 positiv befundenen Stuhlproben die Choleravibrionen in 57 Fällen in Reinkulturen, während in 41 Fällen auf den Platten auch nicht Vibrionen wuchsen. Unter diesen Begleitbakterien war vor allem wieder Bac. faecal. alcaligenes vertreten, der bei 28 Stuhlproben auf den Platten gefunden wurde. Diese häufige Entwickelung von Alcaligenes auf dem Pilonschen Nährboden bei Aussaat von Cholerastühlen erscheint beachtenswert, da bei Verwendung von Alcaligenes-Reinkulturen, wie aus Tabelle I ersichtlich ist, das Wachstum von Alcaligenes auf jener Modifikation im allgemeinen stärker gehemmt wird als auf dem Dieudonnéschen Original-Blutalkaliagar.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
2286	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, graugrünlichen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	Dickes, rasenförmiges Wachstum von großen, matthellgrauen, saftigen, undurchsicht. Kol. = Choleravibrionen	steril
5393	In der Mitte der Platte dickes, rasenförmiges, am Rande der Platte verstreutes Wachstum von mittelgroßen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	1) Dgl. 2) Diesen aufsitzend zahlreiche, mittelgroße, grauweiße, trübe Kolonieen = Staphylokokken	1) Dgl. 2) Diesen aufsitzend zerstreute, sehr kleine, weißgraue, trübe Kolonieen = Staphylokokken	steril
2466	Dgl.	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, graugrünlichen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von großen, matthellgrauen, undurchsicht. Kolon. = Choleravibrionen	steril
443	1) Verstreute, mittelgroße, rauchbraune, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen 2) Dazwischen sehr zahlreiche kleine, weißlichgrüne, trübe Kolonieen = Ruhrbacillen	1) Dgl. 2) Diesen aufsitzend zahlreiche mittelgroße, grauweiße, trübe Kolonieen = Ruhrbacillen	1) Dgl. 2) Diesen aufsitzend zahlreiche sehr kleine, weißgraue, trübe Kolonieen = Ruhrbacillen	steril
139	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	Sehr zahlreiche mittelgroße, graugrünliche, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von großen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	steril
181	In der Mitte der Platte üppiges, rasenförmiges, am Rande der Platte verstreutes Wachstum von mittelgroßen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, graugrünlichen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	Dgl.	steril
161	1) Reichliches, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolon. = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend kleine, graugrünliche, trübe Kolonieen = Alcaligenes	1) Dgl. 2) Diesen aufsitzend verstreute, kleine, hellgraue, trübe Kolonieen mit rotbraunem Zentrum = Alcaligenes	Dgl.	steril

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshimn	Hofer-Hovorka
5392	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von zieml. kleinen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von ziemlich kleinen, graugrünen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von großen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	steril
575	1) Verstreute mittelgroße, rauchbraune, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen 2) Dazwischen zahlreiche sehr kleine, graugrünliche, trübe Kolonieen = Staphylokokken	1) Zahlreiche mittelgroße, graugrünliche, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen 2) Dazwischen sehr zahlreiche, sehr kleine, graugrünliche, trübe Kolon. = Staphylokokken	1) Reichliches, rasenartiges Wachstum von großen, matthellgrauen, undurchsicht. Kol. = Choleravibrionen 2) Diesen aufgelagert zahlr. feinste, trübweiße, stippchenförmige Kolon. = Staphylokokken	steril
478	Reichliches rasenartiges Wachstum von ziemlich kleinen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von ziemlich kleinen, graugrünlichen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von großen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	steril
5624	Dgl.	1) Dgl, 2) Dazwischen verstreute kleinste, hellgraue undurchsige Kolonieen = Tabelle IV	Dgl.	6 verstr. äußerst feine, blauschwarze, undurchsicht. Kolonieen = Tabelle IV
194	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum vonm'ittelgroßen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, graugrünlichen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend verstreute kleine, hellgraue, trübe Kolonieen mit rotbraunem Zentrum = Alcaligenes	Dgl.	steril
1147	Dgl.	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, graugrünen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	Dgl.	Zahlr. äußerst feine, tautropfenartige, helle Kolon. = Choleravibrionen
1345	Dgl.	Dgl.	Dgl.	Vereinz. äußerst feine, tautropfenartige, helle Kolon. = Choleravibrionen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
1291	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	Reichliches, rasenartiges Wachstum von kleinen, mattgraugrünen, trüben Kolonieen (Choleravibrionen), denen verstreute kleinste, trübe, weißlichgrüne Kolonieen (Diplokokken) aufgelagert sind	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend ganz vereinzelte äußerst feine, weißlichgrüne, stippchenartige Kolon. = Diplokokken	Zahlr. äußerst feine, tautropfenartige, weißgraue Kolon. = Diplokokken
1267	1) Zahlreiche mittelgroße, rauchbraune, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen 2) Dazwischen kleine, graugrüne, trübe Kolonieen = Alcaligenes	1) Zahlreiche kleine, mattgraugrüne, trübe Kolonieen = Choleravibrionen 2) Dazwischen sehr zahlreiche kleine, weißlichgrüne, trübe Kolonieen = Alcaligenes	1) Reichliches, rasenförmiges Wachstum von großen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend zahlreiche äußerst feine, weißlichgrüne, stippchenartige Kolonieen = Diplokokken	Zahlr. äußerst feine, tautropfenartige, helle Kolon. = Choleravibrionen
1330	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	Reichliches, rasenförmiges Wachst. von mittelgroßen, mattgraugrünen, undurchsicht. Kol. = Choleravibrionen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von großen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	Verstr. kleinste, blauschwarze, undurchsicht. Kolon. = Choleravibrionen
1327	1) Reichliches, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend verstreute sehr kleine, weißgelbe, saftige Kolonieen = Staphylokokken	1) Reichliches, rasenförmiges Wachst. von mittelgroßen, mattgraugrünen, trüben Kolonieen = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend verstreute kleinste, weißgelbe, saftige, undurchsicht. Kol. = Staphylokokken	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von großen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend verstreute kleinste, weißgraue, saftige, undurchsicht. Kol. = Staphylokokken	Verstr. kleine, blauschwarze, undurchsicht. Kolon. = Choleravibrionen
1384	Ueppiger Rasen von innig gemischten, mittelgroßen, teils rauchbraunen (Choleravibrionen), teils grüngrauen (Alcaligenes), trüben Kolonieen	Wie auf dem Dieudonnéschen Nährboden; doch wachsen die Choleravibrionen mattgraugrün	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von großen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend ein dichter Rasen äußerst feiner, weißlichgrüner, stippchenartiger Kolon. = Diplokokken 3) Dazwischen vereinzelte kleinste, weißgraue. saftige Kolonieen = Staphylokokken	Dgl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
1360	Ueppiger Rasen von innig gemischten, mittelgroßen, teils rauchbraunen (Choleravibrionen), teils grüngrauen, trüben Kolonieen (Alcaligenes)	Wie auf dem Dieudonnéschen Nährboden; doch wachsen die Choleravibrionen mattgraugrün	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von großen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend ein dichter Rasen äußerst feiner, weißlichgrüner, stippchenartiger Kolon. = Diplokokken	Verstr. kleine, blauschwarze, undurchsicht. Kolon. = Choleravibrionen
1222	Dgl.	Dgl.	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von großen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend verstreute kleinste, weißgraue, saftige, undurchsicht. Kol. = Staphylokokken	Zahlr. kleine, blauschwarze, undurchsicht. Kolon. = Choleravibrionen
29	1) Reichliches, rasenförmiges Wachst. von mittelgroßen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend zahlreiche kleinste, grünlichgraue, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, mattgraugrünen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	Dgl.	Dgl.
1207	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolon. = Choleravibrionen	Reichliches, rasenförmiges Wachst. von mittelgroßen, mattgraugrünen, undurchsicht. Kol. = Choleravibrionen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von großen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	Verstr. kleinste, blauschwarze, undurchsicht. Kolon. = Choleravibrionen
5702	Dgl.	Dgl.	Dgl.	steril
5902	Dgl.	Dgl.	Dgl.	steril
5908	Dgl.	Dgl.	Dgl.	steril
1348	Ueppiger Rasen von innig gemischten, mittelgroßen, teils rauchbraunen (Choleravibrionen), teils grüngrauen, trüben Kolonieen (Alcaligenes)	Wie auf dem Dieudonnéschen Nährboden; doch wachsen die Choleravibrionen mattgraugrün	1) Ueppiges, rasenförm. Wachst. von großen, matthellgrauen, saftig., undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend ein dichter Rasen äußerst feiner, weißlichgrüner, stippchenartiger Kol. = Diplokokken 3) Dazwischen vereinzelte kleinste, weißgraue, saftige Kol. = Staphylokokken	Verstr. kleinste, blauschwarze, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
1312	Ueppiger Rasen von innig gemischten, mittelgroßen, teils rauchbraunen (Choleravibrionen), teils grüngrauen, trüben Kolonieen (Alcaligenes)	Wie auf dem Dieudonnéschen Nährboden; doch wachsen die Choleravibrionen mattgraugrün	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von großen, matthellgrauen, saftigen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend ein dichter Rasen äußerst feiner, weißlichgrüner, stippchenartiger Kolon. = Diplokokken 3) Dazwischen vereinzelte kleinste weißgraue, saftige Kol. = Staphylokokken	Zahlr. kleinste, blauschwarze, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen
1276	Dgl.	Dgl.	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von großen, mattgrauweißlich., undurchsichtigen, saftigen Kolonieen = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend verstreute, kleinste, weißgraue, saftige, undurchsichtige Kolonieen = Staphylokokken	Dgl.
1249	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend sehr zahlreiche, feinste, graugrünliche, stippchenartige, trübe Kol. = Diplokokken	Dgl.	Dgl.	Verstr. kleinste, blauschwarze, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen
1183	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	1) Reichliches, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, mattgraugrünen Kolon. = Choleravibrionen 2) Dazwischen eingebettet zahlreiche kleinste, weißlichgrüne, stippchenartige Kolonieen = Diplokokken	Dgl.	Zahlr. kleine, blauschwarze, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hover-Hovorka
1636	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, mattgraugrünen, undursichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, matthellgrauen, saftigen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	steril
267	Dgl.	Dgl.	Dgl.	steril
1560	Dgl.	Dgl.	Dgl.	steril
1603	Dgl.	Dgl.	Dgl.	steril
269	1) Verstreute mittelgroße, rauchbraune, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen 2) Sehr zahlreiche kleine mattweißlichgrüne, undurchsichtige Kol. = Alcaligenes	1) Sehr zahlreiche mittelgroße, mattgraugrünliche, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen 2) Dazwischen zahlreiche kleine, weißlichgrüne, undurchsichtige Kolonieen = Alcaligenes	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von großen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolon. = Choleravibrionen 2) Daneben ganz vereinz. äußerst feine, weißgrünl., trübe Kol. = Staphylokokken	steril
1792	1) Zahlreiche mittelgroße, rauchbraune, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen 2) Sehr zahlreiche kleine mattweißgrünliche, undurchsichtige Kol. = Alcaligenes	1) Sehr zahlreiche mittelgroße, mattgraugrüne, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen 2) Dazwischen vereinzelte äußerst feine, weißgrünliche, trübe Kolon. = Staphylokokken	Dgl.	steril
5877	1) Reichliches, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend sehr zahlreiche feinste, graugrünliche, stippchenartige, trübe Kol. = Diplokokken	Wie auf dem Dieudonnéschen Nährboden; doch wachsen die Choleravibrionen mattgraugrün	Wie auf dem Dieudonnéschen Nährboden; doch sind die Cholerakolonieen größer und matthellgrau	steril
259	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	1) Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, mattgraugrünen, trüben Kolonieen = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend verstreute kleinste, weißlichgrüne, trübe Kolonieen = Diplokokken	Wie auf dem Pilonschen Nährboden; doch sind die Cholerakolonieen größer und matthellgrau	steril

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
1612	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, mattgrünlichgrauen, undurchsichtigen Kolon. = Choleravibrionen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von großen, matthellgrauen, saftig., undurchsichtigen Kolon. = Choleravibrionen	steril
1888	Dgl.	Dgl.	Dgl.	steril
1873	Dgl.	Dgl.	Dgl.	steril
5851	Spärliche kleine, rauchbraune, undurchsichtige glänzende Kol. = Choleravibrionen	Dgl.	Dgl. Kolonieen mittelgroß	steril
291	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen rauchbraunen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	Dgl.	Sehr zahlreiche mittelgroße, matthellgraue, saftige, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen	steril
274	Dgl.	Dgl.	1) Dgl. 2) Diesen aufsitzend verstreute äußerst feine, stippenartige, weißlichgrüne Kol. = Diplokokken	steril
1501	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	1) Sehr zahlreiche mittelgroße, graugrünliche, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen 2) Zwischen diesen sehr zahlr. äußerst feine, tautropfenähnliche Kolon. = Choleravibrionen	Sehr zahlreiche mittelgroße, matthellgraue, saftige, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen	steril
179	1) Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, weißgrauen, undurchsichtigen Kol. = Diplokokken 2) Dazwischen, größtenteils von den obigen Kolonien überdeckt, vereinzelte mittelgroße, rauchbraune, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen	Wie auf dem Dieudonnéschen Nährboden. Cholerakolonieen mattgrüngrau	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von großen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolon. = Choleravibrionen 2) Diesen aufgelagert ein dick. Rasen von kleinen, braungelb., stippchenartigen, undurchsichtigen, flachen Kolonieen = Dahlemstamm	steril
710	Dgl.	Dicker Rasen von kleinen, grünlichweißen, undurchsichtigen Kolonieen = Proteus	1) Dgl.	Vereinz. äußerst feine, graugrüne, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
165	1) Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, weißgrauen, undurchsichtigen Kol. = Diplokokken 2) Dazwischen, größtenteils von den obigen Kolonieen überdeckt, vereinzelte mittelgroße, rauchbraune, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen	1) Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, weißgrauen, undurchsichtigen Kol. = Diplokokken 2) Dazwischen, größtenteils von den obigen Kolonieen überdeckt, vereinzelte mittelgroße, mattgraugrünliche, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von großen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	steril
743	Spärliche kleine, rauchbraune, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen	1) Sehr zahlreiche kleine, graugrüne, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen 2) Diesen aufgelagert verstreute äußerst feine, tautropfenartige, trübe Kol. = Staphylokokken	Dgl.	steril
5452	1) Reichliches, rasenförmiges Wachstum von ziemlich großen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen 2) Dazwischen zahlreiche äußerst feine, tautropfenartige, trübe Kolonieen = Staphylokokken 3) Den Cholerakolonieen aufsitzend vereinzelte größere, weißgraue, saftige, trübe Kol. = Staphylokokken	1) Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, graugrünen, undurchsichtigen Kol. = Diplokokken 2) Diesen aufsitzend vereinzelte größere, weißgraue, saftige, trübe Kolonieen = Staphylokokken	1) Dgl. 2) Diesen aufsitzend verstreute kleine, gelbweiße, trübe Kol. = Staphylokokken	steril
1468	Sehr zahlreiche kleine, rauchbraune, undurchsichsige Kolonieen = Choleravibrionen	Sehr zahlr. kleine, mattgraugrüne, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen	Sehr zahlr. mittelgroße, matthellgraue, saftige, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen	steril
1504	1) Sehr zahlreiche mittelgroße, rauchbraune, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen 2) Daneben äußerst zahlreiche kleine, grünlichgraue, undurchsichtige Kolonieen = Alcaligenes	Wachstum wie auf Dieudonné	1) Sehr zahlr. große, saftige, matthellgraue, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrion. 2) Zahlr. äußerst feine, tautropfenähnliche Kolonieen = Staphylokokken	steril
1453	Dgl.	Dgl.	Dgl.	steril

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
375	1) Sehr zahlreiche mittelgroße, rauchbraune, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen 2) Zahlreiche äußerst feine, helle, tautropfenähnliche Kolonieen = Streptokokken	1) Sehr zahlreiche mittelgroße, mattgraugrünliche, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen 2) Dazwischen vereinzelte äußerst feine, trübe, weißgrünliche Kolon. = Staphylokokken	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von zieml. großen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolon. = Choleravibrionen 2) Sehr zahlreiche äußerst feine, weißgrünliche, trübe Kol. = Staphylokokken	steril
1807	1) Zahlreiche mittelgroße, rauchbraune, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen 2) Sehr zahlr. kleine, mattweißgrünliche, undurchsichtige Kol. = Alcaligenes 3) Verstreute äußerst feine, tautropfenähnliche Kolonieen = Staphylokokken	Wachstum wie auf Dieudonné	Dgl.	steril
5864	1) Zahlreiche mittelgroße, rauchbraune, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen 2) Sehr zahlreiche kleine, mattweißgrünliche, undurchsichtige Kol. = Alcaligenes	Dgl.	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, saftigen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolon. = Choleravibrionen	steril
6587	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, mattgraugrünen, undurchsichtigen Kolon. = Choleravibrionen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von großen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	steril
6629	Dgl.	Dgl.	Dgl.	steril
6578	Dgl.	Dgl.	Dgl.	steril
368	Dgl.	Dgl.	1) Dgl. 2) Diesen Kolonieen aufsitzend verstreute äußerst feine, weißlichgrüne, stippchenartige Kolonieen = Diplokokken	steril
1447	Sehr zahlreiche kleine, rauchbraune, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, graugrünlichen, undurchsichtigen Kolon. = Choleravibrionen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, saftigen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	steril

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
1477	1) Sehr zahlreiche mittelgroße, rauchbraune, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen 2) Zwischen diesen sehr zahlr. kleinere, grünlichgraue, undurchsichtige Kolonieen = Alcaligenes	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, graugrünlichen, undurchsichtigen Kolon. = Choleravibrionen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, saftigen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	steril
1465	1) Sehr zahlreiche kleine, rauchbraune, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen 2) Dazwischen verstreute äußerst feine, tautropfenähnliche Kol. = Alcaligenes	Wachstum wie auf Dieudonné	Dgl.	steril
5705	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	Reichliches, rasenformiges Wachstum von kleinen, graugrünlichen, undurchsichtigen Kolon. = Choleravibrionen	1) Dgl. 2) Diesen aufsitzend verstreute äußerst feine, weißlichgrüne, stippchenartige Kolonieen = Diplokokken	steril
5792	1) Dgl. 2) Dieser Kolonieenrasen ist überzogen von einer grünlichweißen, dickfilzig. Kolonieenschicht = Pyocyaneus	1) Sehr zahlreiche mittelgroße, graugrüne, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen 2) Sehr zahlreiche äußerst feine, grauweißliche, undurchsichtige Kolonieen = Staphylokkoken	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, saftigen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolon. = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend und dazwischen ein dichter Rasen von grünlichweißen, undurchsichtigen Kol. = Pyocyaneus	steril
1507	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, graugrünen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von großen, saftigen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	steril
3714	Dgl.	Dgl.	Dgl.	steril
1486	1) Dgl. 2) Dazwischen sehr zahlr. kleine, grünlichgraue, undurchsichtige Kol. = Alcaligenes	Wachstum wie auf Dieudonné	Dgl.	steril
1687	Dgl.	Dgl.	Dgl.	steril

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
4045	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	Sehr zahlr. kleine, hellgraugrüne, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen	Ueppiges, rasenförmiges Wachst. von großen, saftigen, matthellgrauen, undurchsicht. Kol. = Choleravibrionen	steril
4072	Dgl.	Dgl.	Dgl.	steril
4169	Dgl.	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachst. von kleinen, glänzenden, hellgrauen, undurchsicht. Kol. = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend äußerst zahlreiche, weißgrünl., stippchenartige Kolon. = Alcaligenes	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachst. von großen, saftigen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend feinste, stippchenartige, weißlichgrüne Kolonieen = Alcaligenes	steril
8372	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von innig gemischten, kleinen, teils rauchbraunen (Cholera), teils grünlichgrauen (Alcaligenes), undurchsichtigen Kolonieen	Dgl.	Dgl.	steril
319	1) Zahlreiche mittelgroße, hellgraue, undurchsichtige Kolon. = Choleravibrionen 2) Dazwischen zahlreiche äußerst feine, punktförmige, helle Kolonieen = Streptokokken	Wachstum wie auf Dieudonné	1) Zahlreiche große, saftige, matthellgraue, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen 2) Dazwischen und diesen aufsitzend zahlreiche äußerst feine, punktförmige, helle Kolon. = Streptokokken	steril
1237	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	1) Reichliches, rasenförmiges Wachst. von mittelgroßen, grünlichgrauen, undurchsicht. Kol. = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend zahlreiche kleine, saftige, weißgraue Kolonieen = Staphylokokken	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachst. von großen, saftigen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend vereinzelte feinste, weißlichgrüne, stippchenartige Kolon. = Diplokokken	Sehr zahlreiche rasenförmig wachsende, mittelgroße, blauschwarze Kolonieen = Choleravibrionen
1213	Dgl.	Dgl.	Dgl.	Zahlreiche kleine, blauschwarze, undurchsichtige Kolon. = Choleravibrionen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
1392	1) Zahlreiche große, rauchbraune, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen 2) Dazwischen feinste, tautropfenähnl. Kolon. = Choleravibrionen	1) Reichliches, rasenförmiges Wachst. von mittelgroßen, grünlichgrauen, undurchsicht- Kol. = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend zahlreiche kleine, saftige, weißgraue Kolonieen = Staphylokokken	Ueppiges, rasenförmiges Wachst. von großen, saftigen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	steril
2052	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, rauchbraunen, undurchsichsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	Reichliches, rasenförmiges Wachst. von mittelgroßen, grünlichgrauen, undurchsicht. Kol. = Choleravibrionen	Dgl.	steril
8366	1) Reichliches, rasenförmiges Wachst. von mittelgroßen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen 2) Dazwischen zahlreiche kleine, olivgrüne, undurchsichtige Kolon. = Alcaligenes	1) Sehr zahlr. kleine, hellgraue, glänzende, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen 2) Dazwischen sehr zahlreiche äußerst feine, tautropfenähnliche Kolonieen = Alcaligenes	1) Sehr zahlreiche große, saftige, mattgrauweißliche, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend zahlreiche feinste, stippchenartige, weißlichgrüne Kol. = Alcaligenes	steril
8435	Dgl.	Dgl.	Dgl.	steril
4267	Dgl.	Dgl.	Ueppiges, rasenförmiges Wachst. von großen, matthellgrauen, saftigen, undurchsicht. Kol. = Choleravibrionen	steril
4327	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	Dgl.	steril
8438	Dgl.	1) Dgl. 2) Dazwischen verstreute kleine, olivgrüne, trübe Kolonieen = Alcaligenes	Dgl.	steril
8521	Dgl.	Sehr zahlr. kleine, grünlichgraue, trübe Kolon. = Choleravibrionen	Dgl.	steril

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
4021	1) Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinen, olivgrünen, undurchsichtigen Kolonieen = Alcaligenes 2) Dazwischen vereinzelte größere, rauchbraune, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen	Zahlr. verstreute, kleine, glänzende, hellgraue, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen	1) Zahlreiche mittelgroße, saftige, mattgrauweißliche, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen 2) Dazwischen sehr zahlreiche äußerst feine, punktförmige Kolonieen = Alcaligenes	steril
6664	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinen, mattgrünlichgrauen, undurchsicht. Kol. = Choleravibrionen	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachst. von großen, saftigen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend verstreute kleinste, weißgraue, undurchsichtige Kol. = Staphylokokken	steril
1213	Dgl.	Dgl.	Dgl.	steril
6673	Dgl.	Dgl.	Sehr zahlr. große, saftige, matthellgraue, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen	steril
1225	1) Dgl. 2) Diesen aufsitzend sehr zahlreiche feinste, stippchenartige, graugrünliche, trübe Kolonieen = Diplokokken	Wachstum wie auf Dieudonné Cholera = mattgraugrün	Dgl.	Verstr. kleine, blauschwarze Kolon. = Choleravibrionen
6617	Dgl.	Dgl.	Dgl.	steril
5624	1) Dichtes, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend zerstreute kleine, graugrünliche, undurchsichtige Kolonieen = Alcaligenes	1) Reichliches, rasenförmiges Wachst. von mittelgroßen, grünlichbraunen, undurchsicht. Kol. = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend verstreute kleine, grüngraue, undurchsichtige Kol. = Alcaligenes	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachst. von großen, saftigen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend verstreute kleine, gelbweiße, trübe Kolonieen = Staphylokokken	Verstr. kleinste, blauschwarze, undurchsicht. Kolon. = Choleravibrionen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
8884	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	1) Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinen, grünlichgrauen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen 2) Dazwischen vereinzelte kleine, olivgrüne, trübe Kol. = Alcaligenes	Ueppiges, rasenförmiges Wachst. von großen, matthellgrauen, saftigen, undurchsicht. Kol. = Choleravibrionen	steril
8938	Dgl.	Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinen, grünlichgrauen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	Dgl.	steril
4586	Dgl.	Dgl.	Dgl.	steril
8436	Dgl.	Dgl.	1) Dgl. 2) Diesen aufsitzend feinste, stippchenartige, grünlichgraue, trübe Kol. = Diplokokken	steril
8369	Dgl.	Dgl.	Reichliches, rasenförmiges Wachst. von großen, saftigen, hellgrauen, undurchsicht. Kol. = Choleravibrionen	Zahlr. kleinste, blauschwarze, hämopeptische Kolon. = Sarcine
8908	1) Zahlreiche mittelgroße, rauchbraune, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen 2) Sehr zahlr. kleine, mattweißlichgrüne, undurchsichtige Kol. = Staphylokokken	1) Sehr zahlr. mittelgroße, mattgraugrüne, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen 2) Dazwischen zahlreiche kleinste, mattweißlichgrüne, undurchsicht. Kol. = Staphylokokken	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachst. von großen, saftigen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend verstreute äußerst feine, stippchenartige, weißlichgrüne Kolonieen = Diplokokken	steril
4655	Dgl.	Dgl.	Dgl.	steril
4024	1) Zerstreute mittelgroße, rauchbraune, undurchsicht. Kolon. = Choleravibrionen 2) Dazwischen sehr zahlreiche kleine, olivgrüne, trübe Kolonieen = Alcaligenes	Wachstum wie auf Dieudonné 1) Cholera = hellgrau 2) Alcaligenes = grünlichgrau	1) Zerstreute große, saftige, matthellgraue, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen 2) Sehr zahlreiche feinste, weißlichgraue Kolonieen = Sarcine	steril

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Piłon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
689	1) Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinen, weißgrauen, undurchsicht. Kolonieen = Diplokokken 2) Dazwischen, größtenteils von den obigen Kolonieen verdeckt, vereinz. mittelgroße, rauchbraune, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen	Dichter Rasen von kleinen, grünlichweißen, undurchsichtigen Kolonieen = Diplokokken	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachst. von großen, saftigen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend verstreute kleine, gelbweiße, trübe, Kolonieen = Staphylokokken	steril
827	1) Vereinzelte mittelgroße, rauchbraune, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen 2) Dazwischen zahlreiche mittelgroße, graugrüne, trübe Kolonieen = Alcaligenes 3) Zahlreiche äußerst feine, tautropfenähnliche, trübe Kolonieen = Diplokokken	1) Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinen, grünlichgrauen, undurchsicht. Kolon. = Alcaligenes 2) Dazwischen vereinz. mittelgroße, hellgraue, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen	Dgl.	steril
701	1) Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolonieen = Alcaligenes 2) Diesen aufsitzend verstr. äußerst feine, tautropfenartige, trübe Kol. = Diplokokken 3) Vereinzelte, dem obigen Kolonieenrasen aufsitzende mittelgroße, rauchbraune, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen	1) Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinen, graugrünen, undurchsichtigen Kolonieen = Alcaligenes 2) Diesen aufgelagert verstreute äußerst feine, tautropfenartige Kolonieen = Staphylokokken	Dgl.	steril
6683	1) Zahlreiche kleine, rauchbraune, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen 2) Sehr zahlr. kleine, graugrüne, trübe Kolonieen = Alcaligenes	Wachatum wie auf Dieudonné Cholera = hellgrau	Ueppiges, rasenförmiges Wachst. von großen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolon. = Choleravibrionen	steril
2526	In der Mitte der Platte dickes, rasenförmiges, am Rande der Platte verstreutes Wachstum von mittelgroßen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolon. = Choleravibrionen	Dichter, üppiger Rasen von größeren, graugrünen, undurchsichtigen (= Alcaligenes) und kleinsten, weißgrauen, trüben Kol. (= Staphylokokk.)	1) Dgl. 3) Diesen aufsitzend verstreute kleine, gelbweiße, trübe Kolonieen = Staphylokokken	Verstr. äußerst feine, tautropfenähnliche Kolon. = Streptokokken

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Anscheinend sind die in den Cholerastühlen sich vorfindenden Alcaligenes-Stämme infolge einer gewissen Anpassung an die Lebensbedingungen der Choleravibrionen, wie sie durch die bisherige Symbiose in den Cholerafaeces statthatte, gegenüber der elektiven Wirkung der Choleranährböden weniger empfindlich als die auf Agar einige Zeit hindurch fortgezüchteten Alcaligenes-Reinkulturen. Unter den Nichtvibrionen, die auf dem Pilonschen Nähragar sich noch entwickelt hatten, fanden sich die verschiedenen Kokkenarten ziemlich reichlich, die ebenso wie auf dem Dieudonnéschen Original-Choleraagar ein sehr dürftiges Wachstum zeigten und die Choleradiagnose in keiner Weise erschwerten, ferner in je 1 Fall Proteus, Ruhrbacillen und ein in Tabelle IV morphologisch und biologisch näher beschriebener Bakterienstamm (P 5628). Sehr günstig hinsichtlich der Züchtung von Choleravibrionen aus Cholerakranken und Keimträgerstühlen fielen die Untersuchungen mit dem Hämoglobinextrakt-Sodaagar nach Kabeshima aus. Bereits nach 12- bis 16-stündiger Bebrütung entwickelten sich in jedem Falle bei Aussaat der Cholerastühle auf diesem Nährboden charakteristische, große, saftige, matt-hellgraue Kolonieen, die infolge ihres üppigen Wachstums selbst bei gleichzeitiger Anwesenheit von Nichtvibrionenkolonieen auf den Platten als Cholerakolonieen ohne weiteres zu erkennen waren, und zwar beobachteten wir in 58 Fällen ausschließlich eine Entwickelung von Choleravibrionen auf den beimpften Platten, während bei 47 Stuhlproben auch verschiedene Nichtvibrionenstämme auf dem Nährboden wuchsen. Von Konkurrenzbakterien fanden sich Bac. faecalis alcaligenes nur in 5 Fällen, weiter in je 1 Fall Ruhrbacillen, Pyocyaneus und Dahlem-Stamm [1]), sonst ausschließlich Kokkenarten bzw. Sarcine. Entgegen den Angaben von Kabeshima gedeihen also Alcaligenes-Stämme nicht nur bei Aussaat von Reinkulturen, sondern auch bei Ausstrichen von Cholerastühlen auf dem Hämoglobinextrakt-Sodaagar, wenn auch in Form von kleinsten dürftigen Kolonieen. Die Entwickelung von Alcaligenes- und von Kokken-Kolonieen neben Choleravibrionen wirkte auf dem Nährboden von Kabeshima noch weniger störend als auf dem Elektivnährboden von Dieudonné und von Pilon, da die Cholerakolonieen infolge der großen und üppigen Form einen scharfen Gegensatz zu den meist äußerst feinen, kümmerlichen Kolonieen der anderen Bakterienarten bilden und gewissermaßen „auf den ersten Blick" eine makroskopische Differentialdiagnose gestatten. Stark abweichend von den so günstigen Ergebnissen bei den vorstehend behandelten Nährböden, von denen insbesondere der Dieudonnésche Originalnährboden und die Modifikation von Kabeshima für die Bedürfnisse der Praxis wegen ihrer absoluten Zuverlässigkeit in Frage kommen dürften, war das Resultat der Untersuchungen bei der von Hofer und Hovorka angegebenen Modifikation des Blutalkaliagars. Nur in einer sehr geringen Anzahl von Fällen wurde überhaupt eine bakterielle Entwickelung auf den mit den Cholerastühlen besäten Platten beobachtet, und zwar handelte es sich in den 24 positiven Fällen jeweils um das Hochkommen einer einzigen Bakterienart, worunter Choleravibrionen 20mal, Kokken 2mal, ferner eine in Tabelle IV näher beschriebene Bakterienart und Sarcine je einmal vertreten waren. Die Choleravibrionen zeigten eine kümmer-

1) Eine von uns bereits früher beschriebene Bakterienart. Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

liche und spärliche Entwickelung, wuchsen meist in Form von äußerst feinen, tautropfenähnlichen, blauschwarzen Kolonieen von nicht-charakteristischem Aussehen. Auf den steril gebliebenen Platten fanden sich häufig im Bereich des Ausstriches feinste, nadelförmige Kristalle.

Bei der näheren Untersuchung der beimpften Platten war es uns aufgefallen, daß die Cholerakolonieen bei den verschiedenen Stuhlproben auf derselben Nährbodenart nicht immer das gleiche Aussehen, insbesondere die gleiche Farbe aufwiesen. So wuchsen auf dem Pilonschen Nährboden z. B. die Choleravibrionen aus den Stuhlproben 4169, 8372, 4372 in Form von hellgrauen Kolonieen statt in Form von mattgrauen, wie dies bei der überwiegenden Mehrzahl der anderen Cholerastühle der Fall war, oder es entwickelten sich aus den Choleradejekten 4021, 8366 auf dem Hämoglobinextrakt-Sodaagar matt-grauweißliche statt wie bei der Mehrzahl der Stuhlproben matt-hellgraue Kolonieen. Die Weiterzüchtung dieser anders gearteten Cholerakolonieen auf Agarplatten ergab, daß es sich in diesen Fällen um Mutationsformen von Cholera, und zwar um den von Baerthlein beschriebenen, auf Agar Coli-ähnlich, d. h. in weißlich-gelben, undurchsichtigen Kolonieen wachsenden, und aus kurzen, plumpen, segmentiert sich färbenden Vibrionen zusammengesetzten Mutationstyp handelte, der also auch hier unmittelbar auf den Originalplatten bei der Aussaat von cholerahaltigem Stuhlmaterial aufgetreten war.

III.

Nachdem die im vorigen Abschnitt beschriebenen Untersuchungen der Nährböden uns Aufklärung einmal über ihre wachstums- und entwicklungsfördernden Eigenschaften gegenüber den verschiedenen Cholerastämmen und gleichzeitig über die entwickelungshemmenden Eigenschaften dieser Nährsubstrate gegenüber den Begleitbakterien der Cholerastühle gebracht hatten, erschien es von Wichtigkeit, durch weitere Versuchsreihen festzustellen, inwieweit überhaupt eine Unterdrückung von Stuhlbakterien auf jenen Elektivnährböden bei Verwendung von cholerafreien Stühlen stattfindet; denn bei verschiedenen als Ersatz des Dieudonnéschen Originalnährbodens angegebenen Modifikationen dürfte eine zu geringe Entwickelungshemmung der Stuhlbakterien wohl der Hauptgrund für ihre mangelhafte Einbürgerung in die bakteriologische Untersuchungspraxis gewesen sein. Wir wählten als Ausgangsmaterial für diese Untersuchungen in erster Linie Faeces von fieberhaft Darmkranken (Typhus, Ruhr), ferner von vibrionenfreien Cholerarekonvaleszenten und ehemaligen Cholerakeimträgern, und führten diese Prüfung mit insgesamt 100 Stuhlproben aus. Die Beimpfung der Platten geschah wiederum in der Weise, daß 1 Oese voll Stuhlmaterial zunächst 6 Stunden lang in Peptonwasser angereichert und dann jeweils 2 Oesen der Anreicherungsflüssigkeit aus den Peptonwasserröhrchen auf den verschiedenen Nährböden ausgestrichen wurden. Nach etwa 16—18 Stunden Bebrütung der Platten bei 37° C stellten wir das Ergebnis fest und berücksichtigten also nur die innerhalb dieser Zeit gewachsenen Kolonieen. Ueber den Ausfall der Untersuchungen gibt Tabelle III näheren Aufschluß.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
1896 (Typhusverdacht)	Sehr zahlr. kleinste, graugrünliche, undurchsichtige Kol. = Alcaligenes	Zerstreute äußerst feine, undurchsichtige Kolonieen = Streptokokken	steril	steril
5840 (Typhusverdacht)	Vereinzelte äußerst feine, weißgrünliche, undurchsichtige Kolonieen = Streptokokken	Dichter Rasen äußerst feiner, weißgrünlicher, undurchsichtiger Kol. = Streptokokken	Wachstum wie auf Pilon	„
4 (Choleraverdacht)	Zahlreiche äußerst feine, tautropfenähnliche, undurchsichtige Kolonieen = Streptokokken	Sehr zahlr. äußerst feine, graugrünliche, undurchsichtige Kolonieen = Staphylokokken	Sehr zahlr. äußerst feine, weißgraue Kolonieen mit Hofbildung = hämopeptische Staphylokokken	„
7 (Choleraverdacht)	Dgl.	Dgl. = Diplokokken	Dgl.	„
3020 (Typhus)	steril	steril	steril	„
3042 (Typhus)	„	„	„	„
3223 (Typhus)	„	Vereinzelte äußerst feine, grünlichgraue Kolonieen = Staphylokokken	„	„
7244 (Typhus)	„	Sehr zahlreiche dgl.	Wachstum wie auf Pilon	„
3225 (Typhus)	„	Dgl.	Dgl.	„
7516 (Typhus)	Reichliches, rasenförmigen Wachstum von sehr kleinen, grünlichgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Alcaligenes	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von sehr kleinen, grünlichgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Alcaligenes	Sehr zahlr. äußerst feine, weißgraue Kolonieen mit Hofbildung = hämopeptische Staphylokokken	„
1585 (Typhus)	Dgl.	Dgl.	Vereinzelte äußerst feine, weißgraue Kolon. = Streptokokken	„
1852 (Ruhr)	Reichliches, rasenartiges Wachstum von kleinen, trockenen, grünlichgrauen, undurchsichtigen Kol. = Staphylokokken	Sehr zahlr. äußerst feine, grünlichgraue, undurchsichtige Kolonieen = Staphylokokken	Dgl.	„
883 (Typhus)	Dgl.	Vereinzelte sehr feine, weißgraue, undurchsichtige Kol. = Alcaligenes	Dgl.	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
1786 (Typhus)	Reichliches, rasenartiges Wachstum von kleinen, trockenen, grünlichgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Staphylokokken	Sehr zahlr. äußerst feine, grünlichgraue, undurchsichtige Kolonieen = Staphylokokken	Vereinzelte äußerst feine, weißgraue Kolon. = Streptokokken	steril
2889 (Typhus)	Dgl.	Dgl.	steril	„
7354 (Typhus)	Sehr zahlr. mittelgroße, graugrüne, undurchsichtige Kol. = Alcaligenes	Wachstum wie auf Dieudonné	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, weißgrauen, undurchsichtigen Kol. = Alcaligenes	„
19 (Typhus)	steril	steril	An einzelnen Stellen der Platte äußerst feine, tautropfenähnliche Kolonieen mit Hofbildung = hämopeptische Staphylokokken	„
7617 (Typhus)	„	„	Dgl.	„
1576 (Typhus)	Sehr zahlr. äußerst feine, grünlichweiße, undurchsichtige Kolonieen = Staphylokokken	1) Zahlr. kleine, hellgraue, zerfließende Kol. = Staphylokokken 2) Zahlreiche äußerst feine, weißgrünliche, undurchsichtige Kolonieen = Streptokokken	Sehr zahlr. äußerst feine, weißlichgrüne, undurchsichtige Kolonieen = Staphylokokken	„
5670 (Choleraverdacht)	Dgl.	Wachstum wie auf Dieudonné		„
7453 (Typhus)	Dgl.	Dgl.		„
5626 (Choleraverdacht)	Sehr zahlr. mittelgroße, graugrüne, undurchsichtige Kol. = Alcaligenes	Zahlreiche kleine, hellgraue, glänzende, undurchsichtige Kolonieen mit weißlichem Zentrum = Alcaligenes	Zahlr. sehr feine, tautropfenähnliche Kolonieen mit Hofbildung = hämopeptische Staphylokokken	„
2866 (Typhus)	Vereinzelte äußerst feine, weißgrünliche, undurchsichtige Kolonieen = Streptokokken	Dgl.	Dgl.	„
5 (Choleraverdacht)	Dgl.	Wachstum wie auf Dieudonné	Dgl.	Vereinz. äußerst feine, blauschwarze, undurchsichtige Kol. = Sarcine

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
7623 (Typhus)	Vereinzelte äußerst feine, weißgrünliche, undurchsichtige Kolonieen = Streptokokken	Sehr zahlr. äußerst feine, graugrünliche, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken	Wachstum wie auf Pilon	steril
7702 (Typhus)	steril	steril	steril	„
7720 (Typhus)	Sehr zahlr. äußerst feine, tautropfenähnliche Kolonieen mit hellem Hof = hämopeptische Staphylokokken	Wachstum wie auf Dieudonné		Sehr zahlreiche äußerst feine, blauschwarze, undurchsichtige Kolonieen = hämopeptische Staphylokokken
7625 (Typhus)	steril	Zahlreiche äußerst feine, grünlichgraue, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken	Wachstum wie auf Pilon = Streptokokken	steril
430 (Typhus)	Sehr zahlr. kleine, grünlichgraue, undurchsichtige Kol. = Tabelle IV	Dgl.	Dgl.	„
1789 (Typhus)	Zahlreiche äußerst feine, tautropfenähnliche, undurchsichtige Kolonieen = Streptokokken	Wachstum wie auf Dieudonné	Vereinzelte äußerst feine, weißgraue, undurchsichtige Kolon. mit hellem Hof = hämopeptische Staphylokokken	„
1260 (Typhus)	steril	steril	steril	„
7777 (Typhus)	1) Sehr zahlreiche kleine, grüngraue, undurchsichtige Kolonieen = B. coli 2) Dazwischen zahlreiche kleinste, grünlichgraue, undurchsichtige Kol. = Diplokokken	1) Sehr zahlr. kleine, grünlichgraue, undurchsichtige Kol. = Staphylokokken 2) Verstr. kleinste, grünlichgraue, undurchsichtige Kol. = Diplokokken	Sehr zahlr. äußerst feine, weißlichgraue, undurchsichtige Kolonieen = Streptokokken	„
828 (Typhus)	Sehr zahlr. kleine, grünlichgraue, undurchsichtige Kol. = Alcaligenes	Sehr zahlr. äußerst feine, grünlichgraue, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken	Dgl.	„
7848 (Typhus)	steril	Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolonieen = Alcaligenes	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, hellgrauen, glänzenden, undurchsichtigen Kolonieen = Tabelle IV	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
7860 (Typhus)	Zahlreiche äußerst feine, punktförmige rauchbraune Kol. = Streptokokken	Wachstum wie auf Dieudonné	Zahlreiche kleine, glänzende, hellgraue, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken	steril
2794 (Ruhr)	Spärliche äußerst feine, rauchbraune, trübe Kolonieen = Staphylokokken	Sehr zahlr. feinste, weißgraue, undurchsichtige Kol. mit hellem Hof = hämopeptische Staphylokokken	Sehr zahlr. äußerst feine, weißgraue, undurchsichtige Kolon. mit hellem Hof = hämopeptische Staphylokokken	„
7444 (Choleraverdacht)	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, graugrünen, undurchsichtigen Kol. = Alcaligenes	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, hellgrauen, zerfließenden Kolon. = Alcaligenes	An einzelnen Stellen der Platte kleine, saftige, hellgraue, undurchsichtige Kol. = Alcaligenes	„
978 (Typhus)	Vereinzelte äußerst feine, weißgrünliche, undurchsichtige Kolonieen = Streptokokken	Wachstum wie auf Dieudonné	Vereinzelte äußerst feine, weißgraue, undurchsichtige Kol. mit hellem Hof = hämopeptische Staphylokokken	„
2202 (Typhus)	Dgl.	Dgl.	steril	„
3930 (Typhus)	steril	steril	„	„
8181 (Ruhr)	„	„	„	„
8124 (Choleraverdacht)	„	„	„	„
7483 (Typhus)	1) Sehr zahlr. mittelgroße, mattgraugrüne, undurchsichtige Kolonieen = Alcaligenes 2) Diesen aufsitzend ganz vereinzelte mittelgroße, hellgraugrüne, undurchsichtige Kol. = Staphylokokken	1) Sehr zahlreiche äußerst feine, grauweißliche, undurchsichtige Kol. = Staphylokokken 2) Dazwischen vereinzelte große, zerfließende, flache, graue Kolonieen = Alcaligenes	„	„
7522 (Typhus)	Sehr zahlr. feinste, grauweißliche, undurchsichtige Kol. = Staphylokokken	Wachstum wie auf Dieudonné	„	„
7504 (Typhus)	Dgl. = Streptokokken	1) Zahlr. kleine, zerfließende, hellgraue, glänzende Kol. = Streptokokken 2) An einzeln. Stellen d. Platte kleine, hellgraue, trübe Kol. = B. lact. aërogenes	Verstreute äußerst feine, weißlichgraue, undurchsichtige Kolonieen = Streptokokken	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
1639 (Typhus)	Zahlreiche kleine, zerfließende, hellgraue, glänzende Kolon. = Staphylokokken	Zahlr. äußerst feine, weißlichgraue, undurchsichtige Kol. = Streptokokken	Verstreute kleinste, weißlichgrüne, undurchsichtige Kol. = Staphylokokken	steril
7310 (Typhus)	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, olivgrünen, undurchsichtigen Kol. = Tabelle IV	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, graugrünen, undurchsichtigen Kol. = Diplokokken	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, weißlichgrün., undurchsichtigen Kol. = Staphylokokken	„
3248 (Typhus)	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, graugrünen, undurchsichtigen Kol. = Diplokokken	Dgl.	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, weißgrauen, undurchsichtigen Kol. = Sarcine	Reichlich., rasenförm. Wachst. von äußerst feinen, weißlichgrauen Kol. mit hellem Hof = hämopeptische Staphylokokk.
8009 (Typhus)	Dgl.	Dgl.	Sehr zahlr. kleinste, weißlichgraue, undurchsichtige Kol. = Staphylokokken	steril
2178 (Typhus)	Dgl.	Dgl. = Tabelle IV	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinsten, weißgrauen, undurchsichtigen Kol. mit hellem Hof = hämopeptische Sarcine	„
3830 (Typhus)	Vereinzelte kleinste, weißlichgraue, undurchsichtige Kol. = Staphylokokken	Wachstum wie auf Dieudonné	Ganz vereinz. kleinste, weißlichgraue, undurchsicht. Kol. = Staphylokokken	„
8012 (Typhus)	Dgl.	Dgl.	Dgl.	„
8133 (Choleraverdacht)	Sehr zahlr. kleinste, weißlichgraue, undurchsichtige Kol. = Staphylokokken	Sehr zahlr. kleine, graugrüne, undurchsichtige Kol. = Diplokokken	Sehr zahlr. kleinste, weißlichgraue, undurchsichtige Kol. = Staphylokokken	„
3633 (Choleraverdacht)	Dgl.	Dgl.	Dgl.	„
3810 (Typhus)	steril	steril	steril	„
7247 (Typhus)	1) Zahlreiche mittelgroße, graubraune, undurchsichtige Kol. = Alcaligenes 2) Zahlreiche äußerst feine, grünlichweiße, undurchsichtige Kolonieen = Staphylokokken	Zahlreiche mittelgroße, hellgraue, undurchsichtige Kol. = Alcaligenes	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinsten, weißgrauen, undurchsichtigen Kol. = Staphylokokken	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:25 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
7316 (Typhus)	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinsten, weißlichgrauen, undurchsichtigen Kol. = Staphylokokken	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinsten, olivgrauen, zerfließenden, undurchsichtigen Kol. = Staphylokokken	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinsten, weißgrauen, undurchsichtigen Kol. = Staphylokokken	steril
3028 (Typhus)	Zahlreiche kleinste, weißlichgraue, undurchsichtige Kol. = Staphylokokken	Zahlreiche kleinste, weißlichgrüne, undurchsichtige Kol. = Sarcine	Zahlreiche kleinste, weißgraue, undurchsichtige Kol. = Staphylokokken	Sehr zahlreiche äußerst feine, punktförmige Kol. = Staphylokokken
1958 (Typhus)	steril	Vereinzelte kleinste, weißgraue, undurchsichtige Kol. = Streptokokken	steril	steril
3527 (Typhus)	1) Zahlr. äußerst feine, grünlichgraue, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken 2) Zahlreiche mittelgroße, hellgraue, saftige, Kolonieen = Sarcine	1) Zahlr. äußerst feine, grünlichgraue, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken 2) 5 mittelgroße, hellgraue, saftige Kolon. = Sarcine	Vereinzelte äußerst feine, weißlichgraue, undurchsichtige Kolonieen = Streptokokken	„
3485 (Typhus)	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, olivgrünen, undurchsichtigen Kol. = Alcaligenes	Dgl.	1) Reichliches, rasenförmiges Wachstum von kleinen, weißgrünen, undurchsichtigen Kol. = Sarcine 2) Dazwischen sehr zahlreiche kleine, hellgraue, saftige, undurchsicht. Kol. = Diplokokken	Sehr zahlreiche kleinste, blauschwarze, undurchsichtige Kolonieen mit hellem Hof = hämopeptische Sarcine
7738 (Typhus)	Sehr zahlr. kleine, hellgraue, glänzende Kolonieen mit hellem Hof = hämopeptische Sarcine	Vereinzelte äußerst feine, grünlichgraue, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken	Sehr zahlr. kleine, weißlichgrüne, trübe Kolonieen mit hellem Hof = hämopeptische Staphylokokken	steril
7878 (Typhus)	steril	1) Zahlreiche kleine, rauchbraune, undurchsichtige Kol. = Alcaligenes 2) Zahlreiche kleine, saftige schwefelgelbe Kolonieen = Sarcine 3) Sehr zahlreiche äußerst feine, punktförmige Kol. = Diplokokken	Vereinzelte kleine, rauchbraune, undurchsichtige Kol. = Tabelle IV	Verstr. äußerst feine, blauschwarze, undurchsichtige Kolonieen mit hellem Hof = hämopeptische Sarcine
3792 Typhus)	steril	steril	steril	steril

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
8039 (Typhus)	steril	Vereinzelte äußerst feine, grünlichgraue, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken	Zahlreiche äußerst feine, grünlichgraue, trübe Kol. = Staphylokokken	steril
3684 (Choleraverdacht)	Sehr zahlr. äußerst feine, braungraue, undurchsichtige Kolon. mit hellem Hof = hämopeptische Sarcine	Wachstum wie auf Dieudonné	Dgl.	„
3672 (Choleraverdacht)	Dgl.	Wachstum wie auf Dieudonné		„
7937 (Ruhr)	Spärliche äußerst feine, tautropfenähnliche Kolonieen = Diplokokken	Sehr zahlr. äußerst feine, tautropfenähnliche Kolonieen = Diplokokken	Zahlreiche kleine, hellgraue, glänzende, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken	„
3734 (Typhus)	Sehr zahlr. äußerst feine, tautropfenähnliche Kolonieen = Diplokokken	1) Dgl. 2) Dazwischen vereinzelte größere, hellgraue, saftige, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken	1) Dgl. 2) Dazwischen ganz vereinzelte kleine, matthellgraue, undurchsichtige Kol. = Diplokokken	„
1962 (Typhus)	steril	steril	steril	„
3777 (Typhus)	Spärliche äußerst feine, braungraue, undurchsichtige Kolon. = Staphylokokken	Zahlreiche äußerst feine, braungraue, undurchsichtige Kol. = Staphylokokken	Wachstum wie auf Pilon	„
2733 (Typhus)	Dgl.	Spärliche äußerst feine, braungraue, undurchsichtige Kol. = Staphylokokken	steril	„
3557 (Typhus)	Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinen, hellgrauen, glänzenden, undurchsicht. Kol. = Diplokokken	Wachstum wie auf Dieudonné	Kolonieen größer u. saftiger	„
3608 (Typhus)	Dgl.	1) Vereinz. kleinste, hellgraue, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken 2) Dazwischen vereinz. kleine, schwefelgelbe, undurchsichtige Kolonieen = Sarcine	1) Sehr zahlreiche Kolonieen wie auf Dieudonné = Diplokokken 2) Dazwischen vereinz. saftige, weißlichgraue, glänzende Kolonieen = B. lact. aërogenes	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
7960 (Typhus)	1) Vereinz. äußerst feine, tautropfenähnliche Kolonieen = Diplokokken 2) Dazwischen verstreute mittelgroße, rauchbraune, undurchsicht. Kolon. = Alcaligenes	Vereinzelte kleinste, hellgraue, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken	Sehr zahlr. kleine, hellgraue, glänzende, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken	steril
3896 (Choleraverdacht)	Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinen, olivgrünen, undurchsichtigen Kolonieen = Alcaligenes	1) Sehr zahlreiche kleinste, hellgraue, undurchsicht. Kol. = Diplokokken 2) Dazwischen vereinz. kleine, schwefelgelbe, undurchsichtige Kolonieen = Sarcine	Zahlreiche kleine, hellgraue, glänzende, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken	„
8130 (Choleraverdacht)	Vereinzelte äußerst feine, tautropfenartige Kolonieen = Diplokokken	Vereinzelte äußerst feine, tautropfenartige Kolonieen = Sarcine	Zahlreiche kleinste, weißgraue, undurchsichtige Kol. = Staphylokokken	„
8215 (Typhus)	steril	steril	steril	„
3936 (Typhus)	„	Vereinzelte kleinste, tautropfenähnliche, rauchbraune Kol. = Staphylokokken	„	„
8105 (Typhus)	Zahlreiche kleinste, tautropfenähnliche Kolonieen = Diplokokken	Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinsten, grünlichgrauen, undurchsichtigen Kol. = Diplokokken	Sehr zahlr. kleinste, graugrüne, undurchsichtige Kol. = Staphylokokken	„
3711 (Choleraverdacht)	1) Sehr zahlreiche kleinste, tautropfenähnliche Kolon. = Diplokokken 2) Verstreute äußerst feine, braungraue, undurchsicht. Kolonieen mit hellem Hof = hämopeptische Sarcine	Wachstum wie auf Dieudonné	Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinen, hellgrauen, glänzenden, undurchsicht. Kol. = Diplokokken	„
3645 (Choleraverdacht)	Vereinzelte äußerst feine, grünlichgraue, undurchsichtige Kolonieen = Staphylokokken	Zahlreiche kleinste, gelblichgraue, glänzende, undurchsichtige Kolonieen = Sarcine	Dgl.	„
3503 (Typhus)	Dgl. = Diplokokken	1) Dgl. 2) Vereinz. äußerst feine, grünlichgraue, undurchsichtige Kolonieen = Streptokokken	Vereinzelte kleine, hellgraue, glänzende, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
7945 (Cholera-verdacht)	steril	steril	Vereinzelte kleinste, tautropfenähnliche Kolonieen = Staphylokokken	steril
3555 (Typhus)	9 mittelgroße, rauchbraune, undurchsichtige Kolonieen = Alcaligenes	Vereinzelte kleinste, gelblichgraue, undurchsichtige Kol. = Sarcine	Sehr zahlr. kleinste, hellgraue, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken	„
7845 (Typhus)	Sehr zahlr. äußerst feine, hellgraue, undurchsicht. Kolonieen mit hellem Hof = hämopeptische Diplokokken	1) Dgl. 2) Sehr zahlr. äußerst feine, punktförmige Kolonieen = Diplokokken	Zahlreiche kleine, hellgraue, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken	„
7833 (Cholera-verdacht)	steril	Verstreute kleine, gelblichgraue, undurchsichtige Kol. = Sarcine	Reichliches, rasenförmiges Wachst. von mittelgroßen, saftigen, hellgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = B. lact. aërogenes	„
7863 (Cholera-verdacht)	Zahlreiche kleine, rauchbraune, trübe Kolon. = Sarcine	1) Dgl. 2) Sehr zahlreiche kleinste, weißlichgraue, trübe Kolonieen mit hellem Hof = hämopeptische Staphylokokken	Sehr zahlr. kleine, weißlichgraue, glänzende, trübe Kolon. mit hellem Hof = hämopept. Staphylokokken	„
7842 (Cholera-verdacht)	Dgl.	Dgl.	Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinen, hellgrauen, trüben Kol. = Alcaligenes	„
7857 (Cholera-verdacht)	Verstreute äußerst feine, rauchbraune, undurchsicht. Kol. = Diplokokken	1) Sehr zahlreiche äußerst feine, rauchbraune, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken 2) Verstreute mittelgroße, graue, trübe Kol. = milzbrandähnlicher Sporenbildner	Sehr zahlr. kleine, hellgraue, trübe Kolonieen = Alcaligenes	„
7854 (Cholera-verdacht)	steril	1) Sehr zahlreiche äußerst feine, punktförmige, undurchsichtige Kol. = Diplokokken 2) Vereinz. größere, rauchbraune, trübe Kol. = Tabelle IV	Sehr zahlr. kleine, weißlichgraue, glänzende, undurchsichtige Kolon. mit hellem Hof = hämopept. Staphylokokken	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
8081 (Choleraverdacht)	Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinen, graugrünen, undurchsichtigen Kolonieen = Alcaligenes	Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinen, braungrünen, undurchsichtigen Kolonieen = Alcaligenes	Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinen, glänzenden, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Alcaligenes	steril
7884 (Choleraverdacht)	Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinen, graugrünen, undurchsichtigen Kolonieen = Alcaligenes	Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinen, rauchbraunen, undurchsichtigen Kolonieen = Tabelle IV	Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinen, glänzenden, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Alcaligenes	„
7869 (Choleraverdacht)	steril	Verstreute kleinste, hellgraue, trübe Kolon. mit hellem Hof = hämopeptische Diplokokken	Zahlreiche kleine, hellgraue, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken	„
7860 (Typhus)	Zahlreiche äußerst feine, rauchbraune, undurchsicht. Kol. = Streptokokken	1) Sehr zahlreiche kleinste, hellgraue, trübe Kolonieen mit hellem Hof = hämopept. Diplokokken 2) Verstreute mittelgroße, hellgraue, glänzende, undurchsichtige Kol. = Alcaligenes	Dgl.	„
2174 (Typhus)	Sehr zahlr. kleinste, grünlichgraue, undurchsichtige Kol. = Sarcine	1) Sehr zahlreiche kleinste, tautropfenähnliche Kolon. mit hellem Hof = hämopeptische Sarcine 2) Sehr zahlreiche äußerst feine, grünlichgraue, undurchsichtige Kolon. = Staphylokokken	Reichliches, rasenförmiges Wachst. von kleinsten, weißlichgrauen Kolonieen mit hellem Hof = hämopeptische Sarcine	„
8193 (Choleraverdacht)	steril	Zahlreiche kleinste, rauchbraune, undurchsichtige Kol. = Streptokokken	steril	„
1956 (Typhus)	8 kleine, rauchbraune, trübe Kol. = Staphylokokken	7 kleine, rauchbraune, trübe Kolonieen = Staphylokokken	Sehr zahlr. kleine, weißlichgraue, undurchsichtige Kolonieen mit hellem Hof = hämopeptische Sarcine	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von			
	Dieudonné	Pilon	Kabeshima	Hofer-Hovorka
2170 (Typhus)	Verstreute kleine, rauchbraune, trübe Kolonieen = Staphylokokken	1) Zahlreiche kleine, rauchbraune, trübe Kol. = Staphylokokken 2) Zerstreute größere, weißlichgraue, undurchsichtige Kolonieen mit hellem Hof = hämopeptische Sarcine	Sehr zahlr. kleine, weißlichgraue, undurchsicht. Kolonieen mit hellem Hof = hämopeptische Sarcine	steril
8082 (Ruhr)	Sehr zahlr. äußerst feine, rauchbraune, undurchsicht. Kol. = Diplokokken	Zahlreiche größere, weißlichgraue, undurchsichtige Kolonieen mit hellem Hof = hämopeptische Sarcine	steril	„

Aus den in Tabelle III zusammengestellten Versuchen über die Wachstumshemmung der Stuhlbakterien auf den 4 geprüften Nährböden geht hervor, daß die Entwickelung von Stuhlkeimen auf der Modifikation von Hofer und Hovorka weitaus am stärksten unterdrückt wurde, während bei dem Dieudonnéschen Nährboden und den Modifikationen nach Pilon bzw. Kabeshima die elektive Wirkung anscheinend weniger vollkommen war und zugleich eine gewisse Uebereinstimmung aufwies. Auf dem Nährboden von Hofer und Hovorka wurde bei 96 unter 100 Stuhlproben jegliches bakterielle Wachstum verhindert; bei dem Dieudonnéschen Blutalkaliagar blieben in 27 Fällen die beimpften Platten steril, bei dem Nährboden von Pilon in 14 und bei dem von Kabeshima in 22 Fällen. Das überaus günstige Ergebnis bezüglich der so hohen Elektivität des Hofer-Hovorkaschen Nährbodens verliert indessen seine praktische Bedeutung angesichts der in den Tabellen I und II bereits wiedergegebenen Feststellungen, daß auch Choleravibrionen selbst in den meisten Fällen überhaupt kein Wachstum oder nur eine recht kümmerliche Entwickelung auf diesem zu elektiv eingestellten Nährboden zeigten. Was die Art der auf den einzelnen Nährböden gewachsenen Stuhlbakterien betrifft, so spielen unter diesen verschiedene Kokken- und Sarcinearten die Hauptrolle. Diese Kokken- und Sarcinekolonieen zeigen indessen fast durchweg ein sehr spärliches Wachstum bzw. entwickeln äußerst feine, hauchartige, von echter Cholera ganz verschiedene Kolonieen, so daß sie für die Choleruntersuchung praktisch ohne Bedeutung sind und den Choleranachweis in keiner Weise stören. Wenn wir diesen Umstand bei der Beurteilung der elektiven Eigenschaften der Nährböden entsprechend berücksichtigen und die Platten mit Kokken- bzw. Sarcinewachstum zu den steril gebliebenen hinzurechnen, so erhält man das folgende, recht günstige Bild, das den Unterschied zwischen den 3 letzten Elektivnährböden noch mehr ausgeglichen erscheinen läßt: es blieben steril bzw. zeigten nur Kokken- oder Sarcinewachstum auf dem Dieudonnéschen Nährboden 82 Proz. der Stuhlproben, auf der Modifikation von Pilon ebenfalls 82 Proz., auf dem Hämoglobinextrakt-Sodaagar von Kabeshima 90 Proz., auf

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV.

Bezeichnung des Stammes	Form und Beweglichkeit	Wachstum auf						
		Agar	Traubenzucker-Bouillon	Milchzucker-Bouillon	Lackmusmolke	Barsiekow I	Barsiekow II	Hetsch
D 430	Kurze, schlanke, teilweise schwach gekrümmte, gut bewegliche Stäbhen	Mittelgroße, flache, bröckelige, trübe Kolonieen mit sehr trockener, runzeliger Oberfläche	Keine Vergärung; Wachstum im äuß. Schenkel des Röhrchens; Häutchenbildung	Wachstum wie in Traubenzucker-Bouillon	Starke Blaufärbung, Kahmhautbildung	Rötung und schwache Trübung	θ	Schwache Rötung; keine Vergärung
D 7310	Sehr kurze, plumpe, kokkenähnliche, bewegliche Stäbchen	Kleine saftige, grünlichweiße (wasserfarbene) trübe Kolonieen	Dgl.	Dgl.	Schwache Blaufärbung	θ	θ	θ
H 5624	Mittelgr., schlanke, teilweise leicht gekrümmte, bewegliche Stäbhen	Mittelgr. flache, bröckelige, trübe Kolon. mit sehr trockener, runzeliger Oberfläche	Dgl.	Dgl.	Starke Blaufärbung, Kahmhautbildung	Rötung und schwache Trübung	θ	Schwache Rötung; keine Vergärung
P 5624	Sehr kurze, plumpe, bewegliche Stäbchen	Große, sehr flache, trockene, grünlichweiße (wasserfarbene) Kolonieen mit knopfartigem Zentrum und zerfließendem Rand	Keine Vergärung; starke Trübung im äußeren Schenkel des Röhrchens; leichte Gelbfärbung	Dgl.	Starke Blaufärbung, Kahmhautbildung, leichte Trübung	Starke Rötung und Trübung	Leichte Trübung	Starke Rötung und Trübung
P 2178	Kurze, mitteldicke, unbewegliche Stäbchen	Aeußerst feine, punktförmige, grünlichweiße, trübe Kolon.	Keine Vergärung	Dgl.	Schwache Blaufärbung	θ	θ	Schwache Blaufärbung
P 7854	Sehr kurze, plumpe, unbewegliche Stäbchen	Mittelgroße, saftige, glänzende, coli-ähnliche, schwachgelbe Kolonieen	Dgl.	Dgl.	Starke Blaufärbung	Schwache Blaufärbung	Schwache Blaufärbung	Dgl.
P 7884	Kurze, schlanke, unbewegliche Stäbch.	Dgl.	Dgl.	Dgl.	Dgl.	Dgl.	Dgl.	Dgl.
K 7848	Kurze, plumpe, unbewegliche Stäbch.	Dgl.	Dgl.	Dgl.	Dgl.	Dgl.	Dgl.	Dgl.
K 7878	Sehr kurze, plumpe, kokkenähnliche Stäbchen	Dgl.	Dgl.	Dgl.	Dgl.	Dgl.	Dgl.	Dgl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

der Hofer-Hovorkaschen Modifikation 100 Proz. An zweiter Stelle unter den Stuhlkeimen, die sich auf den Nährböden entwickelt haben, steht Bac. faecalis alcaligenes. In Uebereinstimmung mit den von zahlreichen Autoren in der Praxis gemachten Erfahrungen fanden wir auch hier auf dem Dieudonnéschen Blutalkaliagar ein ziemlich häufiges Wachstum dieser Bakterienart und konnten bei 15 Stuhlproben eine mehr oder weniger reichliche Entwickelung von Alcaligenes-Stämmen feststellen. Auch auf dem von Pilon angegebenen Blutnährboden wurde in 13 Fällen Alcaligenes herausgezüchtet. Bei dem Nährmedium von Kabeshima liegen die Verhältnisse wesentlich günstiger: nur in 6 Fällen kam es hier zur Entwickelung von kleinen, zarten Alcaligenes-Kolonieen, die sich ebenso wie die Kokkenkolonieen von den großen, üppig wachsenden Cholerakolonieen durch die kümmerliche Entwickelung und das anders geartete Kolonieenbild leicht unterscheiden ließen. Auch hier kehrte die Erscheinung, die wir bezüglich des Wachstums der einzelnen Alcaligenes-Stämme bereits bei der Verwendung von Reinkulturen auf den verschiedenen Elektivnährböden beobachtet hatten, wieder, daß nämlich oftmals ein und derselbe Alcaligenes-Stamm nicht gleichzeitig auf sämtlichen Nährmedien gedeiht, daß vielmehr eine Kultur zwar auf dem einen Nährboden ein verhältnismäßig günstiges Fortkommen findet, dagegen auf dem anderen in ihrer Entwickelung vollständig gehemmt wird. So sehen wir trotz gleichzeitiger Aussaat der Stuhlanreicherungen auf sämtlichen Nährböden, z. B. bei den Stuhlproben 1896, 828, 3896, 3555, eine Entwickelung von Alcaligenes nur auf dem Dieudonnéschen Nährboden, bei den Stuhlproben 7848, 7247, 7860 ein Wachstum der genannten Bakterienart nur auf dem Pilonschen Blut-Sodaagar und bei den Stuhlproben 7842, 7857 allein auf dem Hämoglobinextrakt-Sodaagar von Kabeshima.

Auf dem Dieudonnéschen Blutalkaliagar wurden ferner 1 Bact. coli-Stamm, sowie 2 andere Bakterienstämme (D 420 und 7310) isoliert, deren mikroskopisches und biologisches Verhalten (insbesondere das Wachstum auf den für die Differentialdiagnose der Typhus-Coli-Gruppe verwendeten besonderen Nährböden) in Tabelle IV näher beschrieben ist.

Auf der Pilonschen Modifikation wuchsen noch in je einem Falle ein milzbrandähnlicher Sporenbildner und Bac. lactis aërogenes, ferner bei 4 Stuhlproben Bakterienstämme (P 5624, P 2178, P 7854, P 7884), deren Morphologie und Biologie ebenfalls in Tabelle IV näher behandelt ist. Auch auf dem Nährboden von Kabeshima wurden aus 4 Stuhlproben weitere Bakterienstämme gezüchtet, und zwar 2mal Bac. lactis aërogenes und 2mal gleichfalls in Tabelle IV näher beschriebene Stämme (K 7848, K 7878). Auffallend ist bei diesen vergleichenden Untersuchungen die sehr geringe Anzahl von Bact. coli-Stämmen, die auf den verschiedenen Nährböden zur Entwickelung kamen, ferner das gänzliche Fehlen von choleraähnlichen Vibrionenstämmen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

IV.

Erst nach Abschluß der vorstehenden Versuche wurden wir auf die Nachprüfung der Hofer-Hovorkaschen Modifikation durch Fügner aufmerksam und entnahmen dieser Arbeit, daß der Autor trotz genauer Einhaltung der von Hofer und Hovorka angegebenen Vorschrift zur Herstellung ihres Nährbodens zunächst ebenfalls ein fast vollständiges Versagen dieser Modifikation bei Züchtungsversuchen von Choleravibrionen beobachtet hat und erst nach Aenderung der Nährbodenbereitung (nochmaliges kurzes Kochen des Blutalkaliagars nach dem Kristallviolettzusatz) zu einem günstigen Ergebnis bezüglich des Cholerawachstums und der Elektivität gegenüber Stuhlbakterien gekommen ist. Wir haben indessen auf Grund der von uns inzwischen gemachten guten Erfahrungen mit dem Hämoglobinextrakt-Sodaagar von einer weiteren Prüfung der Hofer-Hovorkaschen Modifikation an der Hand der Mitteilungen Fügners abgesehen. Denn einmal wird bei der von Hofer und Hovorka empfohlenen Modifizierung des Blutalkaliagars als einziger Gewinn nur eine gesteigerte Elektivität des Nährbodens gegenüber Stuhlbakterien erzielt, andererseits stehen dem erzielten Vorteil eine Reihe von Nachteilen gegenüber, z. B. die noch spätere Verwendbarkeit der Modifikation als beim Originalnährboden (erst 36 Stunden nach der Herstellung!), die Notwendigkeit, möglichst frischen 3-proz. Agar zu benutzen, die geringe Haltbarkeit der fertig gegossenen Platten, nach Fügner gleichzeitig auch eine gewisse Herabsetzung der Wachstumsenergie der Choleravibrionen auf diesem Nährmedium. Die von Kabeshima empfohlene Modifikation hat dagegen eine Reihe von Fortschritten gebracht, nämlich die sofortige Brauchbarkeit des Nährbodens nach der Herstellung; ein üppiges, rascheres Wachstum der Choleravibrionen als auf den anderen verwendeten Nährmedien bei gleichzeitig hoher Elektivität gegenüber den sonstigen Stuhlbakterien; die leichte Beschaffungs- (Käuflichkeit!) und Aufbewahrungsmöglichkeit des Hämoglobinextraktes, Vorteile, durch die der bei der Hofer-Hovorkaschen Modifikation erzielte Gewinn als überholt gelten muß.

Bei unseren vergleichenden Untersuchungen hatten wir indessen gelegentlich auch einige Nachteile bei dem sonst so gut bewährten Hämoglobinextrakt-Sodaagar beobachtet, deren Ursache wir zunächst festzustellen suchten, um sie vielleicht durch weitere Versuche ausschalten zu können. So hatten wir insbesondere die geringe Haltbarkeit des Nährbodens häufig als störend empfunden, da oftmals die frisch gegossenen Platten bereits nach 18—20 Stunden bei Bebrütung oder 2—3 Tage später bei gewöhnlicher Aufbewahrung reichlich von Keimen durchwachsen waren, die sich bei näherer Nachprüfung meist als Luftkeime (Kokken, Sarcine, Schimmelpilze) erwiesen. Dieser Mißstand der geringen Haltbarkeit ist darauf zurückzuführen, daß bei der von Kabeshima gewählten Zusammensetzung des Nährbodens eine Sterilisierung des Hämoglobinextraktes nicht möglich ist. Wenn auch der Hämoglobinextrakt vielfach bei Verwendung einer ganz frischen Sendung noch eine ziemliche Keimfreiheit aufweist, so nimmt dieselbe bei der häufigen Oeffnung der den Hämoglobinextrakt beherbergenden Kruken doch schnell ab, und es gelangen so nach unseren Untersuchungen — wir impften kleine Mengen des Blutfarbstoffextraktes auf Agarplatten aus — rasch Luftkeime in das Präparat, insbesondere Kokken, Sarcine, Pseudo-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

milzbrand, Schimmelpilze, die dann infolge der nicht ausführbaren Sterilisierung des Hämoglobinextraktes rasch ein Verderben des fertigen Nährbodens nach sich ziehen. Verschiedene Versuche, den Hämoglobinextrakt in physiologischer Kochsalzlösung oder in Sodalösung durch Erhitzen keimfrei zu machen, führten selbst bei vorsichtiger, fraktionierter Sterilisation stets zu einer Gerinnung des Blutfarbstoffextraktes. Nachdem aber Dieudonné bei der Herstellung seines Nährbodens gezeigt hat, daß die Sterilisierung von defibriniertem Blut durch Hitze bei Zusatz von Kalilauge ohne Ausfällung des Hämoglobins gelingt, versetzten wir Auflösungen des Hämoglobinextraktes in physiologischer Kochsalzlösung mit fallenden Mengen von Kalilauge und bestimmten zunächst die geringste Menge von Lauge, durch deren Zusatz eine Gerinnung der Hämoglobinextraktlösung beim Kochen noch verhindert wird. Wir sahen von einem vollständigen Ersatz der Sodalösung durch Kalilauge ab, weil nach den Untersuchungen von Deelemann die Alkalitoleranz der Choleravibrionen gegenüber den Laugen nur wenig, gegenüber der Soda jedoch um das Dreifache im Vergleich zu anderen Bakterien erhöht ist, und wir diese von Kabeshima bei der Herstellung seiner Modifikation bereits erfolgreich angewandte Feststellung Deelemanns auch bei unseren Versuchen zu berücksichtigen für notwendig hielten; denn die geringe entwickelungshemmende Wirkung des Dieudonnéschen Originalnährbodens gegenüber Bac. faecalis alcaligenes-Stämmen dürfte unseres Erachtens auf die ausschließliche Verwendung von Lauge für die Alkalisierung zurückzuführen sein. Die Hämoglobinextrakt-Alkalimischung wurde dann mit verschieden starken Sodalösungen versetzt und so der Prozentgehalt der Sodalösung festgestellt, bei dem noch auf dem Nährboden eine gute Entwickelung von Choleravibrionen und gleichzeitig eine entsprechende Wachstumshemmung von Stuhlbakterien stattfindet.

Bei diesen Vorversuchen erwies sich auch eine Vermehrung der für den Nährboden erforderlichen Hämoglobinextraktmenge als empfehlenswert.

Ein weiterer Nachteil, den wir bei der Prüfung des Hämoglobinextrakt-Sodaagars wiederholt dann beobachteten, wenn der Vorrat der 18-proz. Sodalösung aufgebracht war und eine neue Lösung zum ersten Male benutzt wurde, besteht darin, daß plötzlich ohne erklärbare Ursache auf diesem Nährboden auch das Wachstum von Choleravibrionen vollständig unterdrückt wurde. Wir haben deshalb bei unseren oben beschriebenen vergleichenden Untersuchungen über die Elektivität verschiedener Choleranährböden, wobei wir das für den Hämoglobinextrakt-Sodaagar so günstige Ergebnis erzielten, stets vor der endgültigen Benutzung einer neuen 18-proz. Sodalösung im Vorversuch uns von der guten Entwickelung der Cholerakeime auf den neuen Nährbodenproben überzeugt. Diese mitunter zu hohe Elektivität der Modifikation nach Kabeshima gegenüber den Vibrionen beruht, wie wir im Laufe verschiedener Versuche feststellen konnten, auf der von jenem Autor vorgeschlagenen Verwendung von kristallisierter Soda, die infolge ihrer leichten Verwitterungsfähigkeit und der bei diesem Prozeß stattfindenden Abgabe von Kristallwasser ein chemisch beträchtlich schwankendes Präparat darstellt und nach einem geringen Verlust an Kristallwasser bei Einhaltung der 18-proz. Mischung in Wirklichkeit einen höheren Grad an reiner Soda in der zur Nährbodenbereitung verwendeten Lösung be-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dingt. Es kann dann beispielsweise die 18-proz. Lösung einer kristallisierten Soda, welche bereits Kristallwasser abgegeben hat, in Wirklichkeit der 19—20 proz. Lösung einer intakten kristallisierten Soda entsprechen. Wir haben daher bei der Austitrierung der Sodamenge, die als Ergänzung für die Hämoglobinextrakt-Alkalimischung zur Erzielung der für eine gute Elektivität des Nährbodens erforderlichen Alkalität verwendet werden mußte, die kristallisierte Soda durch die viel konstanter bleibende wasserfreie Soda, das sogenannte Sodamehl, ersetzt und damit auch stets die gewünschte Gleichmäßigkeit in der Zusammensetzung des Nährbodens erreicht. Wir haben auch ferner zu unseren Versuchen außer dem Hämoglobinextrakt Pfeuffer noch andere Hamoglobinpräparate des Handels, darunter das von Esch bereits benutzte Mercksche Hämoglobin herangezogen, sind jedoch bei der Verwendung des Hämoglobinextraktes Pfeuffer geblieben, da dieses Präparat, wie auch bereits Kabeshima betont hat, sich durch seine leichte Löslichkeit vor den anderen auszeichnet und anscheinend auch das Bluteiweiß in einer weniger alterierten Form enthält als andere Hämoglobinpräparate. Als Ergebnis unserer Versuche erzielten wir eine Modifikation, die wir ihrer Zusammensetzung nach am besten als Hämoglobinextrakt-Alkalisodaagar bezeichnen, und deren Herstellung folgendermaßen geschieht:

$3^1/_2$ g Hämoglobinextrakt werden in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst, dann die gleiche Menge wie bei der Kochsalzlösung, also 10 ccm, einer 5,5-proz. Lösung von wasserfreier Soda, sogenannten Sodamehls, und 2 ccm Kalilauge zugesetzt und das Ganze $^1/_4$ Stunde im Dampfkochtopf durch Kochen sterilisiert. (Die Rezeptformel lautet also: $3^1/_2$ g Hämoglobinextrakt + 10 ccm NaCl-Lösung + 10 ccm einer 5,5-proz. Sodalösung + 2 ccm KOH.) Nach Abkühlen der Lösung auf unter 50° C wird sie mit 80 ccm 3-proz., genau auf den Lackmusneutralpunkt eingestellten, 80—90° heißen Agars gemischt und nach kräftigem Umschütteln sofort in Petri-Schalen ausgegossen. Etwaige Niederschläge im Nährboden sind bedeutungslos. Nach kurzer Trocknung im Brutschrank zur Entfernung des Kondenswassers ist der Nährboden sofort verwendungsfähig.

Während die frisch gegossenen Platten der Modifikation von Kabeshima einen ganz charakteristischen Geruch nach Anis aufweisen, zeigen die des neuen Hämoglobinextrakt-Alkalisodaagars wohl infolge der Einwirkung der Kalilauge auf das Hämoglobin ähnlich wie beim Dieudonnéschen Originalcholeraagar, wenn auch wesentlich schwächer, einen Ammoniakgeruch, der den Anisgeruch überdeckt. Der neue Nährboden, welcher bereits seit längerer Zeit in unserem Laboratorium für die Untersuchung von choleraverdächtigem Material verwendet wird, besitzt große Haltbarkeit: man beobachtet selbst nach 8-tägiger Aufbewahrung der Platten an kühlem Ort weder ein Verderben der Platten noch eine Elektivität des Nährbodens[1]).

1) Eine kurze Mitteilung über die Brauchbarkeit dieses Nährbodens findet sich bereits in unserer Arbeit: „Beitrag zur Cholerafrage". (Münch. med. Wochenschr. 1915. No. 21).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

V.

Um ein Bild über die Leistungsfähigkeit des Hämoglobinextrakt-Alkalisodaagars im Vergleich zu dem ursprünglichen von Kabeshima angegebenen Nährboden zu gewinnen, insbesondere über den Grad der Entwickelungshemmung von Stuhlbakterien, haben wir weiterhin vergleichende Untersuchungen über beide Nährsubstrate ausgeführt und dabei die gleiche Versuchsanordnung wie bei den oben beschriebenen vergleichenden Prüfungen der verschiedenen Choleraelektivnährböden beibehalten. Wir haben zunächst eine Anzahl von Reinkulturen verschiedener Bakterienarten, von denen gewisse Stämme auf dem Dieudonnéschen Blutalkaliagar bzw. anderen Choleraelektivnährböden wachsen, und zwar von Vibrionen, Bac. faecal. alcaligenes, Pyocyaneus und Proteus unter Einhaltung der gleichen Technik wie bei den früheren Untersuchungen auf Platten der beiden Nährbödenarten ausgeimpft und dabei ein Ergebnis erzielt, das in Tabelle V zusammengestellt ist.

Aus Tabelle V ersehen wir, daß die meisten Vibrionenstämme sich gleichmäßig gut entwickelten, daß nur bei einzelnen Kulturen, wie Vibrio Calcutta 173, Vibrio Petersburg 6, Vibrio Elwers, das Wachstum auf dem Hämoglobinextrakt-Alkalisodaagar gehemmt wurde. Auf der anderen Seite kommen Alcaligenes-Stämme auf dem neuen Nährboden etwas zahlreicher und kräftiger zur Entwickelung als auf dem Nährboden von Kabeshima. So bildeten z. B. Alcaligenes 3889 und 3068 auf unserer Modifikation noch zahlreiche feinste Kolonieen, während die gleichzeitig beimpften Platten des Kabeshima-Nährbodens unter denselben Bedingungen steril blieben. Im übrigen wurde auch auf dem modifizierten Nährmedium ein großer Teil der verwendeten Alcaligenes-Kulturen vollständig in der Entwickelung gehemmt. Bezüglich der Entwickelungsmöglichkeit von Alcaligenes-Kulturen nähert sich also der Hämoglobinextrakt-Alkalisodaagar wieder etwas dem Dieudonnéschen Originalnährboden. Diese Erscheinung dürfte ihre Erklärung darin finden, daß bei unserer Modifikation zur Alkalisierung des Nährbodens neben dem Sodazusatz Kalilauge wie beim Dieudonnéschen Blutalkaliagar verwendet werden mußte. Immerhin wird aber das Wachstum der Alcaligenes-Stämme auf dem Hämoglobinextrakt-Alkalisodaagar doch so stark gehemmt, daß die charakteristischen kleinen, kümmerlichen Alcaligenes-Kolonieen sich ähnlich wie die Kokkenkolonieen ohne weiteres von echter Cholera unterscheiden lassen und keine Komplizierung der Diagnose wie beim Dieudonnéschen Nährboden bedeuten. Recht günstig liegen die Verhältnisse bezüglich der Wachstumshemmung bei den Proteus-Stämmen, die auf den beiden Nährböden, abgesehen von je 1 verschiedenen Kultur, überhaupt nicht hochkommen. Was endlich die Pyocyaneus-Stämme anlangt, so bildeten von den 6 ausgesäten Kulturen auf dem Hämoglobinextrakt-Sodaagar von Kabeshima 2, auf unserer Modifikation 3 einen feinen, graugrünlichen, von echter Cholera ganz verschiedenen Kolonieenrasen. Zusammenfassend ergibt sich somit, daß auf den beiden vergleichsweise geprüften Nährböden für die verwendeten Reinkulturen von Vibrionen, Proteus und Pyocyaneus im allgemeinen gleichmäßig günstige bzw. ungünstige Entwickelungsbedingungen bestehen, während Alcaligenes-Stämme auf dem Hämoglobinextrakt-Alkalisodaagar auf unserer Modifikation anscheinend etwas häufiger wachsen als auf dem Nährboden von Kabeshima.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle V.

Bezeichnung des Stammes	Wachstum auf dem Nährboden von Kabeshima	Wachstum auf unserer Modifikation
Vibrio Petersburg	Reichl., rasenförmiges Wachst. von kleinen, saftigen, grünlichgrauen, undurchsichtigen Kolonieen	Wachst. wie auf Kabeshima
Vibrio Calcutta 21	Reichl., rasenförmiges Wachst. von kleinen, saftigen, weißlichgrauen, undurchsichtigen Kolonieen	Reichl., rasenförm. Wachst. v. klein., saftigen, matthellgrauen undurchs. Kol.
Vibrio Calcutta 173	Dgl.	Ganz vereinzelte kleine, weißlichgraue, trüb. Kol.
Vibrio Metschnikoff	Reichl., rasenförmiges Wachst. von kleinen, saftigen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolonieen	Zahlr. kleine, weißlichgraue, undurchsichtige Kolonieen
Vibrio Petersb. 0	Dgl.	Wachst. wie auf Kabeshima
Vibrio cholerae Calcutta	Reichl., rasenförmiges Wachst. von kleinen, saftigen, weißlichgrauen, trüben Kol.	Dgl.
Vibrio Finkler	Reichl., rasenförmiges Wachst. von mittelgroßen, choleraähnl. matthellgrauen, trüben Kolonieen	Dgl.
Vibrio Petersburg 6	Reichl., rasenförmiges Wachst. von kleinen, saftigen, grünlichgrauen, trüben Kol.	Zahlr. kleine, saftige, grünl.-graue, trübe Kolonieen
Vibrio Elwers	Reichl., rasenförmiges Wachst. von kleinen, saftigen, weißlichgrauen, trüben Kol.	steril
Vibrio Warthe	Reichl., rasenförmiges Wachst. von mittelgroßen, saftig., weißlichgrauen, trüb. Kol.	Wachst. wie auf Kabeshima
Alcaligenes 7354	steril	steril
Alcaligenes 1390	steril	steril
Alcaligenes 42	steril	steril
Alcaligenes 1247	An einzelnen Stellen saftiger Kolonieenrasen von weißlichgrauer Farbe	An einz. Stellen feines, hauchförm. Wachst. von weißlichgrauen Kol.
Alcaligenes 1926	steril	steril
Alcaligenes 3889	steril	Reichl., rasenförmiges Wachst. von äußerst feinen, grünbraun. undurchsichtig. Kolonieen
Alcaligenes 2886	Reichl., rasenförmiges Wachstum von sehr klein., grünl.-weißen, trüben Kolonieen	Wachst. wie auf Kabeshima
Alcaligenes 1953	An einzelnen Stellen spärlicher, hauchförmiger, rauchbrauner Kolonieenrasen	Dgl.
Alcaligenes 7884	Vereinzelte, äußerst feine, rauchbraune, undurchsichtige Kol.	Rasenf. Wachst. von äußerst feinen, grünlichbraunen, undurchsicht. Kol.
Alcaligenes 3068	steril	An einzeln. Stellen hauchförm. rauchbrauner Kolonieenrasen
Proteus 8369	steril	steril
Proteus 4327	An einzelnen Stellen saftiger, weißlichgrauer, glänzender Kolonieenrasen	steril
Proteus 1330	steril	An einzeln. Stel- kleiner, hauchförmiger, weißlichgrauer Kolonieenrasen
Proteus 2458	steril	steril
Proteus 4586	steril	steril
Proteus 4045	steril	steril
Proteus 478	steril	steril
Proteus 8884	steril	steril
Pyocyaneus 167	steril	An einer Stelle feuchter, hauchförmiger, olivgrüner Kolonieenrasen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stammes	Wachstum auf dem Nährboden von Kabeshima	Wachstum auf unserer Modifikation	Bezeichnung des Stammes	Wachstum auf dem Nährboden von Kabeshima	Wachstum auf unserer Modifikation
Pyocyaneus 4303	steril	steril	Pyocyaneus 5792	steril	steril
Pyocyaneus 78	An einer kleinen Stelle hauchförmiger, graugrünlich. Kolonieenrasen	In der Mitte der Platte saftiger, graugrünlicher Kolonieenrasen	Pyocyaneus 78	steril	steril
Pyocyaneus 372	Dgl.	Dgl.			

Die folgenden Versuchsreihen befassen sich mit den Entwickelungsbedingungen der Choleravibrionen bei Aussaat von Stühlen Cholerakranker bzw. Cholerakeimträger auf der Modifikation von Kabeshima bzw. unserem Hämoglobinextrakt-Alkalisodaagar. Es wurden bei diesen vergleichenden Untersuchungen insgesamt 51 Cholerastühle auf beiden Nährböden nach vorheriger 6 Stunden langer Anreicherung ausgestrichen und das Ergebnis nach 16—18-stündiger Bebrütung bei 37° festgestellt. Das Resultat ist in Tabelle VI wiedergegeben.

Aus Tabelle VI ist zunächst ersichtlich, daß bei sämtlichen 51 Stuhlproben sowohl auf dem Nährboden von Kabeshima wie auf dem Hämoglobinextrakt-Alkalisodaagar die Choleravibrionen die übrigen Stuhlbakterien stark überwuchert haben und ihr Nachweis in jedem einzelnen Falle ohne Schwierigkeit gelang. Dabei haben die Cholerakeime auf dem modifizierten Nährboden verschiedentlich etwas größere und saftigere Kolonieen gebildet als auf dem von Kabeshima angegebenen Nährsubstrat.

Aus der vergleichenden Uebersicht des Prüfungsergebnisses geht ferner hervor, daß sich bei dem größeren Teil der Stuhlproben, und zwar bei 42 Fällen = 82,3 Proz., auf den Platten die wachstumsfördernden bzw. entwickelungshemmenden Eigenschaften der beiden Nährböden als vollkommen gleich erwiesen, wenn man davon absieht, daß auf einzelnen Platten des Nährbodens von Kabeshima die Kokkenentwickelung etwas reichlicher ist als auf unserer Modifikation.

Unter diesen 42 Stuhlproben gelang bei 7 Fällen die Züchtung der Choleravibrionen in Reinkultur, während in 35 Fällen außer den kräftig gewachsenen Cholerakolonieen noch einzelne andere Bakterienarten auf den Platten eine meist recht kümmerliche, vom Cholerawachstum durchaus abweichende Entwickelung zeigten. Von Wichtigkeit erscheint dabei der Umstand, daß nicht nur die zahlreichen auf den geprüften Nährböden gewachsenen Kokkenarten, sondern auch andere auf gewissen Choleraelektivnährböden ziemlich gut gedeihende Bakterienarten, z. B. Alcaligenes, Proteus, Bact. coli, sowohl auf dem Nährmedium von Kabeshima wie auf dem Hämoglobinextrakt-Alkalisodaagar eine intensive Wachstumshemmung erfahren und daher für den Choleranachweis auch keine größeren Schwierigkeiten bereiten als die leicht erkennbaren Kokkenkolonieen. Von Begleitbakterien fanden sich bei den oben erwähnten 35 Stuhlproben, bei denen außer den üppig aufschießenden, großen Cholerakolonieen — nur bei Stuhl 252 haben sich ganz vereinzelte Kolonieen entwickelt — noch einzelne andere Stuhlbakterien ge-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VI.

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von Kabeshima	Wachstum auf unserer Modifikation
4757	1) Reichliches, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, hellgrauen, saftigen. undurchsichtigen Kolon. = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend zerstreute kleinste, stippchenförmige, graue Kolonieen = Diplokokken	Wachstum wie auf Kabeshima
848	Ueppiges, rasenförm. Wachstum von großen, saftigen, hellgrauen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	Dgl.
2052	Dgl.	Dgl.
8366	1) Sehr zahlr. mittelgroße, saftige, hellgraue, undurchsichtige Kolon. = Choleravibrionen 2) Dazwischen zahlreiche kleinste, matthellgraue, undurchsichtige Kolonieen = Streptokokken	Dgl.
4778	Dgl.	Dgl.
252	1) 1 mittelgroße, matthellgraue, trübe Kol. = Choleravibrionen 2) Rasenförm., hauchartiges Wachstum von äußerst feinen, tautropfenähnlichen Kol. = Staphylokokken	1) 2 große, saftige, matthellgraue, trübe Kolon. = Choleravibrionen 2) Reichliches, hauchförmiges Wachstum von äußerst feinen, tautropfenähnlichen Kolon. = Staphylokokken
33	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, saftigen, matthellgrauen, trüben Kolonieen = Choleravibrionen 2) Dazwischen verstreute kleinste, weißlichgraue Kolonieen mit hellem Hof = hämopeptische Sarcine	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von großen, saftigen, matthellgrauen, trüben Kol. = Choleravibrionen
2418	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, saftigen, hellgrauen, trüben Kol. = Choleravibrionen	Dgl.
2391	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, saftigen, hellgrauen, trüben Kol. = Choleravibrionen 2) Dazwischen vereinzelte kleinste, stippchenartige graue Kol. = Diplokokken	Wachstum wie auf Kabeshima
9028	Dgl.	Dgl.
898	1) Sehr zahlreiche mittelgroße, saftige, hellgraue, trübe Kol. = Choleravibrionen 2) Dazwischen zahlr. kleinste, rauchbraune, trübe Kolonieen = Staphylokokken	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, saftigen, hellgrauen, trüben Kolonieen = Choleravibrionen
522	1) Dgl. 2) (Ganz vereinzelte Kolonieen)	Wachstum wie auf Kabeshima
911	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, saftigen, hellgrauen, trüben Kol. = Choleravibrionen 2) Vereinzelte kleinste, matthellgraue, undurchsichtige Kol. = Alcaligenes	Dgl.
5437	Ueppiges, rasenförm. Wachstum von mittelgroßen, saftigen, hellgrauen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	Dgl.
2527	Dgl.	Dgl.
478	1) Dgl. 2) Dazwischen vereinzelte äußerst feine, matthellgraue, trübe Kolonieen = Proteus	Dgl.
910	Dgl.	Dgl.
8369	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, saftigen, matthellgrauen, trüben Kolonieen = Choleravibrionen 2) Dazwischen hauchförmiger graubrauner Kolonieenrasen = Proteus	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von großen, saftigen, hellgrauen, trüben Kol. = Choleravibrionen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von Kabeshima	Wachstum auf unserer Modifikation
458	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, saftigen, hellgrauen, undurchsichtigen Kolon. = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend zahlreiche kleinste, grüngraue, trübe Kol. = Staphylokokken	Reichliches, rasenförmiges Wachstum von großen, saftigen, hellgrauen, trüben Kol. = Choleravibrionen
9105	Dgl.	Wachstum wie auf Kabeshima
2427	Dgl.	Dgl.
9102	Dgl.	Dgl.
2458	Ueppiges, rasenförm. Wachstum von mittelgroßen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von großen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen
9111	Sehr zahlreiche mittelgroße, saftige, matthellgraue, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen	1) Sehr zahlreiche große, matthellgraue, saftige, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen 2) Dazwischen sehr zahlreiche kleine, grünlichgraue, trübe Kolonieen = Alcaligenes
8435	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, saftigen, matthellgrauen, trüben Kol. = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend verstreute kleinste, graugrüne, stippchenartige trübe Kolonieen = Staphylokokken	Wachstum wie auf Kabeshima
8909	1) Dgl. 2) Sehr zahlreiche kleinste, graugrüne, stippchenartige trübe Kolonieen = Staphylokokken	Dgl.
9067	Dgl.	Dgl.
1330	Dgl.	Dgl.
2452	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, saftigen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachst. von großen, saftigen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend zahlreiche kleinste, stippchenförmige, grünlichgraue, trübe Kolon. = Staphylokokken
45	1) Dgl. 2) Diesen aufsitzend dichter Rasen von feinsten, grünlichgrauen, stippchenförmigen Kolonieen = Staphylokokken	Dgl.
438	Dgl.	Wachstum wie auf Kabeshima
2525	1) Dgl. 2) Verstreute Kolonieen dgl. = Staphylokokken	Dgl.
685	Dgl.	Dgl.
245	Dgl.	Dgl.
8438	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, saftigen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolon. = Choleravibrionen 2) Auf diesen verstreute kleinste, stippchenförmige, graugrüne, trübe Kolon. = Staphylokokken	Ueppiges, rasenförmiges Wachst. von großen, saftigen, matthellgrauen, trüben Kolonieen = Choleravibrionen
258	Dgl.	Wachstum wie auf Kabeshima
4655	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, saftigen, matthellgrauen, trüben Kolonieen = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend zahlreiche kleine, saftige, weißlichgraue, trübe Kolonieen = Alcaligenes	Dgl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von Kabeshima	Wachstum auf unserer Modifikation
4169	1) Reichliches, rasenförmiges Wachst. von mittelgroßen, saftigen, braungrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen 2) Zahlreiche kleine, olivgrüne, undurchsicht. Kol. = Bact. coli	Wachstum wie auf Kabeshima
4873	Dgl.	Dgl.
2458	Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, saftigen, hellgrauen, trüben Kolon. = Choleravibrionen	Dgl.
169	1) Dgl. 2) Dazwischen zahlreiche kleine, saftige, weißlichgraue, trübe Kolonieen = Staphylokokken	1) Dgl. 2) Dazwischen vereinzelte kleinste, stippchenförmige, trübe Kolon. = Staphylokokken
4327	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, saftigen, hellgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen 2) Dazwischen zahlreiche äußerst feine, tautropfenähnl. Kolon. = Proteus	1) Wachst. wie auf Kabeshima 2) Verstr. kleinste, stippchenförmige, trübe Kolon. = Staphylokokken
9004	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, saftigen, matthellgrauen, trüben Kolonieen = Choleravibrionen 2) Diesen aufsitzend zahlr. kleinste, stippchenförmige, graue, trübe Kolonieen = Diplokokken	1) Kolon. größer. Wachst. wie auf Kabeshima
8438	1) Dgl. 2) Verstreute Kolonieen dgl. = Diplokokken	Ueppiges, rasenförmiges Wachst. von großen, saftigen, braungrauen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen
404	1) Dgl. 2) Sehr zahlreiche Kolonieen dgl. = Diplokokken	1) Dgl. 2) Dazwischen verstreute kleinste, grünlichgraue, trübe Kolonieen = Diplokokken
133	1) Sehr zahlr. mittelgroße, matthellgraue, saftige, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen 2) Sehr zahlr. kleinste, saftige, glänzende, graue Kolonieen = Staphylokokken 3) Vereinzelte kleine, weißlichgraue, glänzende, trübe Kolonieen = Staphylokokken	1) Sehr zahlreiche große, saftige, matthellgraue, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen 2) Zahlr. kleinste, saftige, glänzende, graue Kolon. = Staphylokokken
525	1) Dgl. 2) Zahlreiche Kolonieen dgl. = Alcaligenes 3) Vereinzelte kleinste, weißlichgraue, trübe Kolonieen = Sarcine	1) Dgl. 2) Verstreute Kolonieen dgl. = Alcaligenes
838	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von großen, saftigen, matthellgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Choleravibrionen 2) Verstreute kleinste, matthellgraue, trübe Kolon. = Bact. coli 3) Verstreute kleinste, weißlichgraue, trübe Kolonieen = Staphylokokken	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachst. von großen, saftigen, graubraunen, undurchsichtigen Kol. = Choleravibrionen 2) Dazwischen verstreute kleinste, matthellgraue, trübe Kolon. = Staphylokokken
8884	1) Sehr zahlreiche große, saftige, matthellgraue, undurchsichtige Kol. = Choleravibrionen 2) Dazwischen sehr zahlreiche kleinste, matthellgraue, undurchsichtige Kolon. = Proteus	Wachstum wie auf Kabeshima
8938	1) Ueppiges, rasenförmiges Wachstum von mittelgroßen, saftigen, matthellgrauen, trüben Kolonieen = Choleravibrionen 2) Zahlreiche kleinste, matthellgraue, trübe Kol. = Bact. coli	Dgl.
4024	1) Zahlreiche mittelgroße, saftige, graubraune, undurchsichtige Kolonieen = Choleravibrionen 2) Dazwischen sehr zahlreiche kleinste, rauchbraune, undurchsichtige Kolonieen = Staphylokokken	1) Dgl. 2) Zahlreiche Kolonieen dgl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wachsen sind, in 25 Fällen ausschließlich Kokkenarten bzw. vereinzelt Sarcinestämme, ferner in 4 Fällen Proteus und in je 3 Fällen Alcaligenes bzw. Bact. coli.

Bei 9 Stuhlproben machten sich hinsichtlich der elektiven Wirkung zwischen den beiden untersuchten Nährböden geringe Unterschiede geltend in der Art, daß auf dem Hämoglobinextrakt-Alkalisodaagar das Wachstum von Begleitbakterien der Cholerastühle noch etwas häufiger unterdrückt wurde als auf dem Kabeshima-Agar. Auf dem letztgenannten Nährboden konnten wir bei 9 Cholerastuhlausstrichen auf den Platten nur 2mal Reinkulturen feststellen, bei dem Hämoglobinextrakt-Alkalisodaagar dagegen 5mal; ferner entwickelten sich außer Cholera auf jedem Nährsubstrat noch 4mal Kokken, 1mal Sarcine und je 1mal Proteus bzw. Bact. coli, auf unserer Modifikation wuchsen nur in 2 Fällen außer Cholera Kokken bzw. Alcaligenes.

Zusammenfassend ergibt sich somit, daß der Hämoglobinextrakt-Alkalisodaagar dem Kabeshima-Nährboden sowohl bezüglich der günstigen wachstumsfördernden Eigenschaften für Cholerakeime wie auch hinsichtlich der gleichzeitigen starken Entwickelungshemmung von Stuhlbakterien in Cholerastühlen zum mindesten nicht nachsteht.

Zum Abschluß unserer Untersuchungen haben wir dann noch eine vergleichende Prüfung der beiden Nährböden auf ihre entwickelungshemmenden Eigenschaften gegenüber Stuhlbakterien überhaupt ausgeführt und dabei 121 Stuhlproben, die teils von ehemaligen Cholerakranken oder -keimträgern stammten, teils von Typhus-, Ruhr- oder sonstigen fieberhaft Darmkranken herrührten, nach vorangegangener, 6-stündiger Anreicherung in Peptonwasser auf den Platten ausgestrichen und das Ergebnis nach 16—18 Stunden Bebrütung der Platten bei 37° C festgestellt. Eine tabellarische Uebersicht über den Ausfall der Untersuchungen findet sich in Tabelle VII.

Aus den in Tabelle VII zusammengestellten Versuchen geht hervor, daß auch die entwickelungshemmenden Eigenschaften auf die Stuhlbakterien überhaupt bei dem Nährboden von Kabeshima und dem Hämoglobinextrakt-Alkalisodaagar im großen und ganzen gleichmäßig gut ausgeprägt sind; denn bei den 121 Stuhlproben beobachteten wir in 98 Fällen, d. i. in 81 Proz., bezüglich des Wachstums von Stuhlbakterien auf den beiden Nährböden das gleiche Verhalten, das nur insofern einen kleinen Unterschied aufwies, als bei unserer Modifikation die Entwickelung der Bakterien auf den Platten vielfach etwas kümmerlicher und spärlicher war als bei dem Nährboden von Kabeshima. Was den Ausfall der Untersuchungen im einzelnen betrifft, so blieben bei den 98 in ihrem Ergebnis übereinstimmenden Stuhlproben 23mal die beimpften Platten vollkommen steril. In 61 Fällen wuchsen Kokken oder vereinzelt Sarcine, ferner 11mal Bact. coli, 10mal Bac. faecalis alcaligenes, 5mal Bac. lactis aërogenes und 1mal Pyocyaneus. Zu berücksichtigen ist dabei, daß in 13 Fällen Kokken und Bakterien oder 2 verschiedene Bakterienarten gleichzeitig nebeneinander auf ein und derselben Platte sich entwickelten.

Bei den 23 Stuhlproben, bei denen sich auf den geprüften Nährböden ein Unterschied in den entwickelungshemmenden Eigenschaften gegenüber den Stuhlbakterien ergab, lagen die Verhältnisse bei dem Hämoglobinextrakt-Alkalisodaagar etwas günstiger als bei dem Nährmedium von Kabeshima: während nämlich bei dem letztgenannten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VII.

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von Kabeshima	Wachstum auf unserer Modifikation
4991 (cholera-verdächtig)	An einzelnen Stellen der Platte hauchförmiger Rasen von feinsten, tautropfenähnlichen Kolonieen = Streptokokken	Wachst. wie auf Kabeshima
4976 (cholera-verdächtig)	Dgl.	steril
4996 (cholera-verdächtig)	Sehr zahlr. kleinste, grünlichgraue, trübe Kolonieen = Streptokokken	Wachst. wie auf Kabeshima
4994 (cholera-verdächtig)	Hauchförm. Wachstum von kleinsten, grünlichgrauen, schmierigen, undurchsichtigen Kolonien = Proteus	steril
9212 (Typhus)	steril	steril
9179 (Typhus)	steril	steril
9162 (Typhus)	1) Sehr zahlr. mittelgroße, zerfließende, flache, helle Kolon. = Alcaligenes 2) Diesen aufsitzend kleine, saftige, gelbweiße, trübe Kolon. = Pyocyaneus	Wachst. wie auf Kabeshima
9159 (Ruhr)	1) Rasenförm. Wachstum von kleinsten, hellgrauen, saftigen Kolon. = Staphylokokken 2) Diesen aufsitzend verstreute größere, weißlichgraue, trübe Kol. = Bact. coli	Dgl.
9200 (Typhus)	steril	steril
9194 (Typhus)	Rasenförmig. Wachstum von kleinsten, saftigen, hellgrauen Kolon. = Streptokokken	Wachst. wie auf Kabeshima
9203 (Ruhr)	Dgl.	Dgl.
9188 (Typhus)	Dgl.	Dgl.
9191 (Typhus)	steril	steril
9209 (Ruhr)	Verstreute kleinste, hellgraue, saftige, trübe Kolonieen = Sarcine	steril
9176 (Typhus)	Dgl.	Wachst. wie auf Kabeshima
9248 (cholera-verdächtig)	Zahlreiche kleinste, saftige, hellgraue, undurchsichtige Kol. = Streptokokken	Dgl.
9251 (Typhus)	steril	steril
2050 (Typhus)	Zahlreiche feinste, tautropfenähnl. Kol. = Streptokokken	Wachst. wie auf Kabeshima
8938 (Typhus)	Dgl.	Dgl.
9242 (cholera-verdächtig)	1) Rasenförm. Wachstum von kleinsten, saftigen, hellgrauen, trüben Kolonieen = Staphylokokken 2) Diesen aufsitzend verstreute, etwas größere, weißlichgraue, trübe Kolon. = Bact. coli	Dgl.
9182 (cholera-verdächtig)	1) Sehr zahlr. kleinste, saftige, hellgraue, trübe Kolon. = Streptokokken 2) Dazwischen verstreute etwas größ. weißlichgraue, trübe Kolon. = Bact. coli	Dgl.
9206 (cholera-verdächtig)	Sehr zahlr. kleinste, saftige, hellgraue, trübe Kolonieen = Streptokokken	Dgl.
9132 (Ruhr)	Dgl. = Staphylokokken	Dgl.
9197 (Typhus)	Hauchförm. Wachstum von kleinsten, grünlichgrauen, schmierigen, undurchsichtigen Kol. = Proteus	steril
9147 (Typhus)	steril	steril
9606 (Ruhr)	steril	steril

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von Kabeshima	Wachstum auf unserer Modifikation
9129 (cholera-verdächtig)	steril	Rasenförmiges Wachstum von kleinsten, hellgrauen, undurchsichtigen Kol. = Alcaligenes
4045 (Typhus)	1) Rasenförm. Wachstum von kleinsten, grünlichgrauen, schmierigen, undurchsichtigen Kol. = Alcaligenes 2) Dazwischen verstreute kleine, gelblichweiße, trübe Kol. = Bac. lact. aërogenes	Wachst. wie auf Kabeshima
5035 (Typhus)	Dgl.	Dgl., jedoch nur an einzeln. Stellen der Platte
9144 (cholera-verdächtig)	Zahlreiche verstreute kleinste, saftige, hellgraue, trübe Kol. = Staphylokokken	Wachst. wie auf Kabeshima
9185 (cholera-verdächtig)	Zahlreiche kleinste, grünlichgraue, trübe Kolon. = Streptokokken	Dgl.
5002 (Typhus)	1) Rasenförm. Wachstum von sehr kleinen, olivgrünen, undurchsichtigen Kolon. = Alcaligenes 2) Diesen aufsitzend verstreute kleinste, saftige, weißl.-graue, undurchsicht. Kolon. = Streptokokken	Dgl.
5006 (Typhus)	Dgl.	Dgl.
4900 (cholera-verdächtig)	Rasenförm. Wachstum von kleinen, olivgrünen, undurchsichtigen Kolon. = Alcaligenes	Dgl.
4982 (cholera-verdächtig)	1) Hauchförm. Rasen von feinsten, tautropfenähnl. Kolon. = Streptokokken 2) Diesen aufsitzend zerstreute etwas größere, weißlichgraue Kolon. = Staphylokokken	Dgl., jedoch geringer
4979 (Typhus)	1) Hauchförm. Rasen von feinsten, tautropfenähnl. Kolon. = Streptokokken 2) Diesen aufsitzend zerstreute etwas größere, weißlichgraue Kolon. = Staphylokokken	Wachst. wie auf Kabeshima, jedoch geringer
4985 (cholera-verdächtig)	Dgl.	Hauchförm. Rasen von kleinst., tautropfenähnl. Kol. = Streptokokken
9230 (Typhus)	1) Zahlreiche kleinste, tautropfenähnl. Kol. = Streptokokken 2) Dazwischen etwas größ., rauchbraune, undurchsicht. Kol. = Diplokokken	Verstreute Kolonieen dgl.
9150 (Typhus)	Sehr zahlr. kleinste, saftige, hellgraue, trübe Kolonieen = Staphylokokken	Wachst. wie auf Kabeshima
2458 (cholera-verdächtig)	Zahlreiche dgl.	Dgl.
9622 (cholera-verdächtig)	Dgl.	Dgl.
9625 (Durchfall)	Dgl.	Dgl.
2904 (Typhus)	steril	steril
9233 (Durchfall)	steril	steril
2918 (Typhus)	Rasenförm. Wachstum von kleinen, saftigen, weißlichgrauen, glänzenden, trüben Kolonieen = Diplokokken	Wachst. wie auf Kabeshima
4858 (cholera-rekonvaleszent)	Dgl.	Dgl., jedoch feiner
4072 (ehem. cholerakrank)	Dgl.	Dgl.
4855 (ehem. cholerakrank)	Dgl.	Dgl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von Kabeshima	Wachstum auf unserer Modifikation
4888 (ehem. cholerakrank)	steril	steril
9485 (Typhus)	steril	steril
9478 (Typhus)	steril	steril
2913 (Ruhr)	Feinstes hauchförmig. Wachstum von kleinsten, tautropfenähnl. Kolon. = Streptokokken	steril
2901 (Typhus)	Dgl.	steril
2907 (Ruhr)	Sehr zahlr. feinste, grünlichgraue, trübe Kolon. = Proteus	steril
2892 (Typhus)	Verstreute kleinste, tautropfenähnl. Kol. = Bact. coli	steril
1465 (ehem. cholerakrank)	steril	steril
4021 (ehem. cholerakrank)	steril	steril
4267 (ehem. cholerakrank)	1) Zahlreiche kleinste, rauchbraune, durchscheinende Kolon. = Alcaligenes 2) Dazwischen vereinzelte etwas größere, weißlichgraue, trübe Kolonieen = Staphylokokken	Sehr zahlreiche kleinste, weißl.-graue, trübe Kolon. = Staphylokokken
8521 (ehem. cholerakrank)	Dgl.	Dgl.
9471 (Typhus)	Zahlr. äußerst feine, punktförmige Kolon. = Diplokokken	Wachst. wie auf Kabeshima
9443 (Ruhr)	Verstreute Kolonieen dgl.	Dgl.
9499 (ehem. cholerakrank)	Dgl.	Dgl.
2515 (Typhus)	steril	steril
2524 (Typhus)	steril	steril
2506 (Ruhr)	steril	steril
2518 (Typhus)	Rasenförm. Wachstum von kleinsten, tautropfenähnl., undurchsicht. Kolon. = Bact. coli	Wachst. wie auf Kabeshima
2503 (ehem. cholerakrank)	Dgl.	Dgl.
2530 (Typhus)	Dgl.	Dgl.
2533 (Ruhr)	steril	steril
2536 (Typhus)	steril	steril
2482 (ehem. cholerakrank)	Rasenförm. Wachstum von kleinsten, grünlichgrauen, undurchsicht. Kolon. = Bact. coli	Wachst. wie auf Kabeshima
2497 (ehem. cholerakrank)	Sehr zahlr. Kolonieen dgl. = Bact. coli	Dgl.
2483 (Typhus)	Dgl.	Dgl.
2539 (Typhus)	steril	steril
2512 (ehem. cholerakrank)	Sehr zahlr. kleine, saftige, graue, trübe Kolonieen = Diplokokken	Zahlr. äußerst feine, tautropfenähnl. Kol. = Staphylokokk.
9099 (Typhus)	Zahlreiche Kolonieen dgl. = Diplokokken	Dgl.
2500 (Typhus)	Sehr zahlr. kleinste, tautropfenähnliche, grünlichgraue Kol. = Staphylokokken	Rasenf. Wachstum v. kleinst., grünl.-grauen, trüben Kol. = Proteus
2542 (Ruhr)	Sehr zahlr. kleine, saftige, glänzende, graue Kol. = Diplokokken	Wachst. wie auf Kabeshima, Kolon. kleiner
9121 (ehem. cholerakrank)	Dgl.	Dgl.
9156 (Typhus)	steril	steril
9141 (Durchfall)	steril	steril
2488 (Typhus)	Feinstes, hauchförm. Wachstum von zahlreichen äußerst feinen, tautropfenähnl. Kol. = Diplokokken	Wachst. wie auf Kabeshima

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von Kabeshima	Wachstum auf unserer Modifikation
2521 (Typhus)	Feinstes hauchförm. Wachstum von zahlreichen äußerst feinen, tautropfenähnl. Kolonieen = Diplokokken	Wachst. wie auf Kabeshima
9120 (ehem. cholerakrank)	Dgl. = Streptokokken	Dgl.
9153 (ehem. cholerakrank)	Dgl. = Diplokokken	Dgl.
9105 (ehem. cholerakrank)	1) Reichl., rasenförm. Wachst. von kleinen, glänzenden, grünl.-grauen Kolonieen = Staphylokokken 2) Dazwischen verstreute kleine, weißlichgraue, trübe Kol. = Alcaligenes	Dgl. (Rasen feiner)
9117 (Durchfall)	steril	steril
2509 (Typhus)	Verstreute kleinste, saftige, glänzende, graue Kolonieen = Diplokokken	Wachst. wie auf Kabeshima
2494 (Typhus)	Dgl. = Streptokokken	steril
9135 (ehem. cholerakrank)	Dgl.	Wachst. wie auf Kabeshima
9123 (ehem. cholerakrank)	Zahlreiche dgl.	Dgl.
2916 (ehem. cholerakrank)	1) Zahlreiche feinste, stippchenförm. grünlichweiße, trübe Kol. = Bact. coli 2) Dazwischen zahlreiche kleine, weißl.-grüne, saftige, trübe Kolonieen = Diplokokken	1) Dgl. 2) Spärliche Kol. dgl.
2889 (Typhus)	1) Zahlreiche feinste, tautropfenähnl. Kol. = Bact. coli 2) Diesen aufsitzend größere hellgraue, trübe Kolonieen = Sarcine	steril
2880 (Typhus)	Dgl.	Wachst. wie auf Kabeshima, Kolon. kleiner
2917 (Typhus)	1) Rasenförm. Wachstum von kleinen, saftigen, mattgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Diplokokken 2) Dazwischen zahlreiche feinste, tautropfenähnl. Kolon. = Bact. coli	Rasenförmiges Wachstum von sehr kleinen, mattgrauen, trüben Kol. = Diplokokken
4676 (ehem. cholerakrank)	Rasenförm. Wachstum von kleinsten, saftigen, hellgrauen, trüben Kolonieen = Diplokokken	Wachst. wie auf Kabeshima
8438 (ehem. cholerakrank)	Sehr zahlreiche dgl.	Dgl.
4586 (ehem. cholerakrank)	Zahlreiche dgl.	Dgl., Kolonieen kleiner
9619 (Durchfall)	Feiner, schmieriger, weißlichgrüner Kolonieenrasen = Alcaligenes und Proteus	Dgl.
1685 (ehem. cholerakrank)	Rasenförm. Wachstum von sehr kleinen, weißlichgrauen, glänzenden, undurchsichtigen Kolonieen = Streptokokken	Dgl.
8372 (ehem. cholerakrank)	1) Dgl. 2) Dazwischen zahlr. feinste, tautropfenähnliche, farblose Kolon. = Staphylokokken	Dgl.
9464 (Typhus)	Zahlreiche kleinste, grünlichgraue, trübe Kolon. = Staphylokokken	Dgl.
1330 (ehem. cholerakrank)	Dgl.	Dgl.
5701 (Typhus)	Zahlreiche äußerst feine, punktförmige, rauchbraune Kolon. = Diplokokken	Dgl.
9464 (ehem. cholerakrank)	Zahlreiche äußerst feine, grünlichgraue, trübe Kolonieen = Staphylokokken	Dgl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:26 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezeichnung des Stuhles	Wachstum auf dem Nährboden von Kabeshima	Wachstum auf unserer Modifikation
8435 (ehem. cholerakrank)	1) Verstreute kleinste, durchscheinende Kolonieen = Alcaligenes 2) Dazwischen vereinzelte etwas größere, weißlichgraue, glänzende Kolonieen = Diplokokken	Verstr. äußerst feine, tautropfenähnl. Kolon. = Alcaligenes
2898 (ehem. cholerakrank)	Zahlreiche kleine, saftige, weißlichgrüne, glänzende, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken	Wachst. wie auf Kabeshima
2910 (Ruhr)	Rasenförm. Wachstum dgl.	Dgl.
2883 (ehem. cholerakrank)	Zahlreiche Kolonieen dgl.	Spärliche Kolonieen dgl.
9138 (Typhus)	Verstreute kleine, mattgraue, glänzende, undurchsichtige Kolonieen = Streptokokken	Verstreute kleine, saftige, mattgraue, undurchsicht. Kolonieen = Staphylokokken
2491 (Ruhr)	Rasenförm. Wachstum von kleinsten, bröckeligen, glänzenden, graugrünlichen, trüben Kol. = Bac. lact. aërogen.	Wachst. wie auf Kabeshima
9114 (ehem. cholerakrank)	Sehr zahlr. kleinste, grünlichgraue, undurchsichtige Kolon. = Staphylokokken	Dgl.
9108 (ehem. cholerakrank)	Dgl.	Dgl.
9254 (Typhus)	Dgl.	Dgl.
4988 (Typhus)	Vereinzelte kleinste, weißlichgraue, undurchsichtige Kolon. = Diplokokken	Wachst. wie auf Kabeshima
9239 (ehem. cholerakrank)	Dgl.	Dgl.
9215 (Typhus)	Rasenförm. Wachstum von kleinsten, schmierigen, grünlichgrauen, undurchsichtigen Kolonieen = Alcaligenes	Hauchförmiges Wachstum von feinsten, tautropfenähnlich. Kolonieen = Streptokokken
5027 (Typhus)	Dgl.	Wachst. wie auf Kabeshima, jedoch feiner
5703 (Ruhr)	Hauchförm. Wachstum von kleinsten, punktförmigen, farblosen Kolonieen = Staphylokokken	Wachst. wie auf Kabeshima
2886 (Typhus)	1) Rasenförm. Wachstum von kleinen, glänzenden, graubraunen, undurchsichtigen Kolonieen = Alcaligenes 2) Diesen aufsitzend zahlreiche, etwas größere, weißlichgraue, trübe Kolon. = Bact. coli	Dgl.
2895 (ehem. cholerakrank)	1) Rasenförm. Wachstum von kleinen, mattgrauen, undurchsichtigen Kol. = Diplokokken 2) Dazwischen zahlreiche feinste, tautropfenähnl. Kolon. = Bact. coli	Vereinz. kleine, mattgraue, undurchsichtige Kolonieen = Diplokokken

Nährboden die beimpften Platten nur in einem Falle steril blieben und weiterhin 15mal Kokken, 4mal Alcaligenes, 4mal Bact. coli, 3mal Proteus (dabei 4mal gleichzeitig Bakterien und Kokken nebeneinander auf einer Platte) auf diesem Nährmedium wuchsen, blieben bei unserer Modifikation 10 Stuhlausstriche steril, 10 weitere Platten zeigten ein mäßiges Wachstum von Kokken, 2 ein solches von Alcaligenes und 1 ein solches von Proteus. Auch bei diesen Prüfungen konnten wir übereinstimmend beobachten, daß in den Fällen, wo die beimpften Platten eine Bakterienentwickelung erkennen ließen, das Wachstum dieser Stuhlbakterien durchweg recht kümmerlich war, daß sich nur kleine bzw. kleinste, punktförmige Kolonieen entwickelten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es ergibt sich somit auch aus diesen letzten Versuchsreihen, daß der Hämoglobinextrakt-Alkalisodaagar dem Nährboden von Kabeshima hinsichtlich der Elektivität gegenüber Stuhlbakterien überhaupt als durchaus gleichwertig anzusprechen ist.

Zusammenfassung.

Vergleichende Untersuchungen, die mit verschiedenen Choleraelektivnährböden, und zwar dem Dieudonnéschen Originalnährboden und den Modifikationen desselben nach Pilon, nach Kabeshima und nach Hofer und Hovorka ausgeführt wurden, zeitigten folgendes Ergebnis:

1) Cholera-Reinkulturen entwickelten sich innerhalb 16—18 Stunden üppig auf dem Nährboden nach Kabeshima, kräftig auf dem Nährboden nach Dieudonné und nach Pilon, fast gar nicht auf dem Nährboden nach Hofer-Hovorka.

2) Reinkulturen choleraähnlicher Vibrionen kamen auf dem Nährboden von Dieudonné, Pilon und Kabeshima stets, aber weniger gut als Choleravibrionen, auf dem Nährboden nach Hofer-Hovorka nur ausnahmsweise zur Entwickelung.

Alcaligenes-Reinkulturen wuchsen in der Mehrzahl, und zwar kräftig auf dem Dieudonnéschen Blutalkaliagar und der Modifikation nach Pilon, in der Minderzahl und nur kümmerlich auf dem Nährboden nach Kabeshima und gar nicht auf dem nach Hofer-Hovorka.

Pyocyaneus-Reinkulturen entwickelten sich fast stets, jedoch nur kümmerlich, Proteus-Reinkulturen nur ausnahmsweise auf dem Nährboden von Dieudonné, Pilon und Kabeshima; beide Bakterienarten keimten auf dem Nährboden von Hofer-Hovorka in keinem Falle aus.

3) Bei Aussaat von Stühlen Cholerakranker bzw. Cholerakeimträger lieferten die Nährböden nach Dieudonné und nach Kabeshima stets ein positives Resultat, während der Pilonsche Nährboden in einigen Fällen und der Nährboden nach Hofer-Hovorka in der Mehrzahl der Fälle versagten.

4) Bei Aussaat von Stühlen Cholerakranker bzw. Cholerakeimträger wurden Reinkulturen von Choleravibrionen erzielt auf dem Nährboden von Kabeshima in 54,7 Proz., auf Dieudonnéschem Nährboden in 55,6 Proz. und auf Pilonschem Nährboden in 57,5 Proz. der Fälle. Von Begleitbakterien fanden sich, abgesehen von stets in kümmerlichen Kolonieen wachsenden Kokkenarten, Alcaligenes-Kolonieen auf Dieudonné in 25,7 Proz., auf Pilon in 26,6 Proz., dagegen auf Kabeshima nur in 4,75 Proz. der Fälle. Auf den genannten Nährböden wurden außerdem in vereinzelten Fällen Kolonieen von Proteus, Pyocyaneus, Ruhrbacillen und Dahlem-Stämmen angetroffen. Auf dem

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nährboden von Hofer-Hovorka wurde das Wachstum von Begleitbakterien stets unterdrückt.

5) Aufschluß über die allgemeine Elektivität der geprüften Nährböden, d. h. über die Frage, inwieweit bei Verwendung von cholerafreiem Material Stuhlbakterien überhaupt auf jenen Nährsubstraten in ihrer Entwickelung gehemmt werden, erhielten wir durch Ausstrich aus Stühlen von anderen fieberhaften Darmerkrankungen, insbesondere von Typhus- und Ruhrstühlen. Es zeigte sich, daß die meisten mit derartigem Stuhlmaterial beimpften Nährböden von Dieudonné, Pilon und Kabeshima, soweit sie nicht steril blieben, nur mit feinsten Kolonieen verschiedener Kokkenarten bewachsen waren; es betrug die Zahl der steril gebliebenen bzw. nur von kümmerlichen Kokkenkolonieen bewachsenen Platten beim Dieudonnéschen Blutalkaliagar und dem Pilonschen Nährboden je 82 Proz., beim Hämoglobinextrakt-Sodaagar von Kabeshima 90 Proz.

In zweiter Linie wurde Wachstum des B. faecalis alcaligenes beobachtet, der auf Dieudonné in 15 Proz., auf Pilon in 13 Proz. und auf Kabeshima in 6 Proz. der Stuhlproben zur Entwickelung kam. Andere Stuhlbakterien, insbesondere die Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe, wurden entweder in ihrem Wachstum sehr stark gehemmt oder meist vollständig unterdrückt.

Auf dem Nährboden von Hofer und Hovorka unterblieb mit Ausnahme von 4 Fällen, in denen Kokken sich entwickelten, jegliches Bakterienwachstum.

6) Der Dieudonnésche Originalnährboden hat sich somit bei dem Nachweis von Choleravibrionen in echten Cholerastühlen wiederum sehr gut bewährt. Als störend wurde empfunden, daß der Nährboden nicht sofort verwendbar ist und das Wachstum von Alcaligenes häufig nicht genügend unterdrückt.

Der Pilonsche Nährboden, der den Vorteil der sofortigen Verwendbarkeit hat, steht bezüglich der Wachstumsförderung von Cholera und der Elektivität gegenüber den Stuhlbakterien dem Dieudonnéschen Blutalkaliagar nicht nach: in einzelnen Fällen muß jedoch mit einem Versagen des Nährbodens gerechnet werden.

Als recht brauchbar und unter gewissen Bedingungen dem Originalnährboden nach Dieudonné ebenbürtig hat sich der von Kabeshima angegebene Hämoglobinextrakt-Sodaagar erwiesen. Abgesehen von der hohen Elektivität und der guten Entwickelungsmöglichkeit der Choleravibrionen — Wachstum bereits nach 12—16 Stunden! — hat diese Modifikation den Vorteil der sofortigen Verwendbarkeit, der leichten Beschaffungsmöglichkeit (Käuflichkeit) des Bluteiweißes, der einfachen Herstellung und der starken Entwickelungshemmung von Alcaligenes.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nicht geeignet erscheint die Modifikation des Dieudonnéschen Nährbodens nach Hofer und Hovorka.

7) Die Verwendbarkeit des Hämoglobinextrakt-Sodaagars nach Kabeshima wird indessen dadurch beeinträchtigt, daß dieser Nährboden nur eine geringe Haltbarkeit infolge der nicht ausführbaren Sterilisierung des Hämoglobinextraktes besitzt und außerdem Alkalitätsschwankungen aufweist, die durch die Benutzung der in ihrem reinen Sodagehalt infolge leichter Verwitterung sehr wechselnden kristallisierten Soda bedingt sind, und die zuweilen auch das Wachstum der Choleravibrionen stark schädigen bzw. vollständig hemmen.

Diese Nachteile des Nährbodens wurden von uns dadurch ausgeschaltet, daß wir den Hämoglobinextrakt mit der hierzu erforderlichen Mindestmenge von Kalilauge durch Kochen sterilisierten und die noch weiterhin erforderliche Alkalisierung des Nährbodens durch Zusatz einer 5,5-proz. Lösung von wasserfreier Soda, sogenannten Sodamehls, vornahmen.

8) Dieser von uns hergestellte Hämoglobinextrakt-Alkalisodaagar ist gleichfalls sofort gebrauchsfähig, etwa 2 Wochen haltbar und ermöglicht stets ein gleichmäßiges gutes Wachstum der Cholerakeime. Vergleichende Untersuchungen ergaben, daß er hinsichtlich der Wachstumsförderung der Cholerakeime und der gleichzeitigen starken Entwicklungshemmung bzw. Unterdrückung von Stuhlbakterien dem Nährboden von Kabeshima im allgemeinen gleichwertig ist. Die zuweilen auf unserer Modifikation beobachtete etwas bessere Entwickelung von Alcaligenes dürfte auf den Laugenzusatz — der Nährboden nähert sich hinsichtlich seiner Elektivität wieder etwas dem Dieudonnéschen Originalnährboden — zurückzuführen sein, wirkt jedoch in keiner Weise störend auf den raschen Ablauf der Choleradiagnose ein.

9) Die Herstellung des Nährbodens geschieht in folgender Weise:

$3^1/_2$ g Hämoglobinextrakt werden in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst, dann die gleiche Menge wie bei der Kochsalzlösung, also 10 ccm, einer 5,5-proz. Lösung von wasserfreier Soda, sogenannten Sodamehls, und 2 ccm Kalilauge zugesetzt und das Ganze $^1/_4$ Stunde im Dampfkochtopf durch Kochen sterilisiert. (Die Rezeptformel lautet also: $3^1/_2$ g Hämoglobinextrakt + 10 ccm NaCl-Lösung + 10 ccm einer 5,5-proz. Sodalösung + 2 ccm KOH.) Nach Abkühlung der Lösung auf unter 50° C wird sie mit 80 ccm 3-proz., genau auf den Lackmusneutralpunkt eingestellten, 80—90° C heißen Agars gemischt und nach kräftigem Umschütteln sofort in Petri-Schalen ausgegossen. Etwaige Niederschläge im Nährboden sind bedeutungslos. Nach kurzer Trocknung im Brutschrank zur Entfernung des Kondenswassers ist der Nährboden sofort verwendungsfähig.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Literaturverzeichnis.

1) Baerthlein, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 40. 1912. H. 4.
2) Dieudonné, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. H. 1.
3) Esch, Dtsche. med. Wochenschr. 1910. No. 12.
4) Fügner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914. H. 3/4.
5) Gildemeister und Baerthlein, München. med. Wochenschr. 1915. No. 21.
6) Haendel und Baerthlein, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 40. 1912. H. 4.
7) Heim, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 30, und Dtsche. med. Wochenschr. 1907.
8) Hofer und Hovorka, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70. 1910. H. 7.
9) Kabeshima, ibid. Bd. 70. H. 3/4.
10) Kutscher und Hoffmann, zit. nach Haendel und Baerthlein, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 40. 1912. H. 4.
11) Moldavan, Oesterr. Sanitätswes. 1912. No. 8.
12) Neufeld und Woithe, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 33.
13) Pilon, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 60. 1911.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Generated on 2019-09-15 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Inhalt.

Baerthlein, Karl u. **Gildemeister, E.**, Ueber Choleraelektivnährböden, p. 550.
Doerr, R. u. **Pick, R.**, Untersuchungen über das Virus der Hühnerpest, p. 476.
Dold, Hermann, Eine einfache Methode zur Gewinnung von Leukocyten, p. 548.
Galli-Valerio, B., Parasitologische Untersuchungen und parasitologische Technik, p. 511.
Gieszczykiewicz, M. u. **Sierakowski, St.**, Ein choleraähnlicher Vibrio, p. 465.
Leon, N., Notices helminthologiques, p. 519.
Ozaki, Y., Zur Kenntnis der anaëroben Bakterien der Mundhöhle. III. Ueber eine Spirochäte, p. 469.
Sanfelice, Francesco, Ueber die bei der Staupe vorkommenden Einschlußkörperchen, p. 495.
Sikora, H., Beiträge zur Biologie von Pediculus vestimenti, p. 523.
Tillgren, J., Studien über Pneumokokken-Immunität. I. Die Leukocyten, p. 537.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 76. Heft 8.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 76 enthaltenen Arbeiten.

Abel, Friedrich Loeffler †. 241
Adsersen, Vald., Die Spezifizität des Drusestreptococcus, mit besonderer Berücksichtigung des Vergärungsvermögens gegenüber Kohlehydraten usw. 111
Amato, Alexander, Ueber die Speicheldrüsen bei Lyssa. 403
Angelis, G. de s. **Tizzoni, G.**
Baerthlein, Karl, und **Gildemeister, E.,** Ueber Choleraelektivnährböden. 550
Bail, Oskar, Veränderungen von Bakterien im Tierkörper. XI. Untersuchungen über kapsellosen Milzbrand. 38
—, Veränderungen von Bakterien im Tierkörper. XII. Abschwächungsversuche am Milzbrandbacillus bei 42°. 330
Beretta, Arturo, Mikrobenlokalisationen in der Zahnpulpa auf dem Wege der Blutbahn. Experimentelle Untersuchungen. 124
Bertani, Michele, Ueber die Tuberkulose des Hundes. Vorläufiger Bericht. 401
Bertarelli, E., Cellitsäckchen als Ersatz für Kollodiumsäckchen. 463
—, und **Bocchia, J.,** Experimentelle Untersuchungen über die Zahl der Keime und die Infektionen. 184
Bocchia, J. s. **Bertarelli, E.**
De Angelis, G. s. **Tizzoni, G.**
Delta, Constantin, Sur la réaction de Wassermann dans le typhus exanthématique. 50
Doerr, R., und **Pick, R.,** Untersuchungen über das Virus der Hühnerpest. 476
Dold, Hermann, Eine einfache Methode zur Gewinnung von Leukocyten. 548
Fermi, Claudio, La virulence, respectivement la dose minima mortelle de la salive et des glandes salivaires rabiques comparée à celle de la substance nerveuse rabique. Contribution au mécanisme de l'immunisation rabique. 178
—, Pouvoir immunisant de la salive et des glandes salivaires rabiques, c'est-à-dire, du virus rabique isolé de la substance nerveuse. Contribution au mécanisme de l'immunisation rabique. II. Note. 349
—, Pouvoir immunisant de la substance nerveuse rabique d'animaux (poulets, canards, oies) dont la substance nerveuse normale est privée du pouvoir immunisant. Mécanisme de l'immunisation rabique. III. Note. 434
Fermi, Claudio, Pouvoir immunisant et lyssicide des nucléo-protéides, des substances nerveuses et normales, des substances blanches et grises séparées, de la substance testiculaire, du jaune d'œuf et des testicules du mouton. Mécanisme de l'immunisation rabique. IV. Note. 436
Frei, Walter, Notiz über die Desinfektionskraft der „Thigans". 363
Galli-Valerio, B., Beobachtungen über Culiciden. 260
—, La méthode de Casares-Gil pour la coloration des cils des bactéries. 233
—, Parasitologische Untersuchungen und parasitologische Technik. 511
Gieszczykiewicz, M., und **Sierakowski, St.,** Ein choleraähnlicher Vibrio. 465
Gildemeister, E. s. **Baerthlein, Karl.**
Hadley, Philip B., The reciprocal relations of virulent and attenuated cultures in active immunization. 442
—, On the transmission from mother to offspring of immunity against fowl cholera. 196
Herzfeld, E., und **Klinger, R.,** Quantitative Untersuchungen über den Indol- und Tryptophanumsatz der Bakterien. 1
Hottinger, Rob., Beitrag zur Theorie der Färbung nach Gram. Kolloidchemisch-optische Gesichtspunkte. 367
Hutyra, F., und **Manninger, R.,** Spezifische Abbaufermente gegen Zellbestandteile von Bakterien, 456
Jacobitz, Choleruntersuchungen. 97
Jaffé, Hermann, Ein Vorschlag zur Materialersparnis bei bakteriologischen Untersuchungen. 304
Klinger, R. s. **Herzfeld, E.**
Knack, A. V., Die Untersuchungen im künstlichen Dunkelfeld. 235
Kohl-Yakimoff, Nina (†), und **Yakimoff, W. L.,** Hämogregarinen der Seefische. 135
Kraus, R., und **Loewy, O.,** Ueber Hühnerpest. 3. Mitteilung: Ueber eine Varietät des Hühnerpestvirus. 343
Küthe, H., Ueber Bakterien im Kälberdarm. 409
Kulka, Wilhelm, und **Sztahovszky, Antal,** Ein improvisierbarer Thermoregulator für Petroleumbeleuchtung. 237
Lanz, August, Die Kresolseifenlösungen des Handels und des Deutschen Arzneibuches, Ausgabe vier und fünf. 206

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Leeuwen, Joël Fredrik Hendrik Louis van, Die intrakutane Tuberkulination bei Hühnern. 275
Leon, N., Notices helminthologiques. 519
Linden, Gräfin von, unter Mitarbeit von **Zenneck, L.,** Untersuchungen über die Entwickelung der freilebenden Generationen der Lungenwürmer. 147
v. Lingelsheim, W., Zur Frage der Verwendbarkeit alkalischer Blutnährböden für die praktische Choleradiagnose. 108
Loewy, O. s. **Kraus, R.**
Manninger, R. s. **Hutyra, F.**
Markl, Jaromir Gottlieb, Eine neue Vorrichtung für rasches und billiges Arbeiten bei Massenuntersuchungen auf Cholera. 305
Olsson, P. G., Zur Variation des Choleravirus. 23
Otto, R., Ueber die Durchführung von Massenuntersuchungen auf Cholerakeimträger. 392
Ozaki, Y., Zur Kenntnis der anaëroben Bakterien der Mundhöhle. 2. Mitt. Ueber einen Micrococcus. 118
—, Zur Kenntnis der anaëroben Bakterien der Mundhöhle. 3. Mitt. Ueber eine Spirochäte. 469
Pfeilschmidt, Ueber den Wert der Mandelbaumschen Typhusnährböden (Rosolsäure-Laktose-Blutagar). 88
Pick, R. s. **Doerr, R.**
Porcelli-Titone, Ferdinando, Ueber die Beweglichkeit der den ultravioletten Strahlen ausgesetzten Bakterien. 54
Pribram, Ernst, und **Pulay, Erwin,** Beiträge zur Systematik der Mikroorganismen. I. Die Gruppe des Bacterium fluorescens. 321
Pulay, Erwin s. **Pribram, Ernst.**
Sanfelice, Francesco, Ueber die bei der Staupe vorkommenden Einschlußkörperchen. 495
Sangiorgi, Giuseppe, Ueber einen Befund in der Warze (Verruca Porro). 257
Schmitz, K. E. F., Ein neuer Elektivnährboden für Typhusbacillen. 306
Sierakowski, St. s. **Gieszczykiewicz, M.**
Sikora, H., Beiträge zur Biologie von Pediculus vestimenti. 523
Smyth, Henry Field, The influence of bacteria upon the development of tissues in vitro. 12
Sonne, Carl, Die diagnostische Bedeutung der Agglutination der giftarmen Dysenteriebacillen (Paradysenteriebacillen) in Patientenseris. 65
v. Spindler-Engelsen, Anna, Vergleichende Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit verschiedener säurefester Bakterien gegen Antiformin. 356
Stickdorn, W., Untersuchungen über die der Coli-Typhusgruppe angehörigen Erreger von Kälberkrankheiten. 245
Süssmann, Ph. O., Die Verwendung von Drigalski-Schalen zur Gewinnung von Typhus- und Choleraimpfstoff mit Hilfe eines einfachen Apparates. 288
Sztahovszky, Antal s. **Kulka, Wilhelm.**
Tillgren, J., Studien über Pneumokokken-Immunität. I. Mitteilung. Die Leukocyten. 537
Tizzoni, Guido, und **De Angelis, G.,** Bedeutung des Pleomorphismus bei der Identifikation und Klassifikation des Streptobacillus pellagrae (T.). 47
—, Die Pellagra in Bessarabien. Vorläufige Mitteilung. 48
Toenniessen, Erich, Ueber die Bedeutung der Virulenz und morphologischer Bestandteile der Bakterien für die Immunisierung und über die immunisierende Wirkung autolysierter Kulturen. 262
Yakimoff, W. L. s. **Kohl-Yakimoff, Nina.**
Zenneck, L. s. **Linden, Gräfin von.**
Ziemann, H., Ueber eigenartige Malariaparasitenformen. 384
Zucker, Alfred, Zur Bekämpfung der Kleiderläuse. 294

II. Sachverzeichnis.

Abbaufermente gegen Zellbestandteile von Bakterien. 456
Abszeß, Becken-, Staphylococcus minimus bei demselben. 122
—, Hirn-, Diplococcus reniformis aus demselben. 121
Abwehrfermente und Bacillus anthracis. 458
— — — anthracoides. 458
— gegen Zellbestandteile von Bakterien. 456
Affen, Tuberkulose. 513
Agglutination des Bac. aureus. 326
— des Bac. coli. 247
Agglutination des Bac. fluorescens. 326
— — putidus. 326
— — pyocyaneus. 326
— der giftarmen Dysenteriebacillen (Paradysenteriebacillen) in Patientenseris. 65
— des Proteus vulgaris. 326
— des Vibrio cholerae. 106
— — fluorescens. 326
— — proteus. 326
— — saprophiles. 326
Aktinomyzeten, Untersuchungen. 512
Anisol gegen Kleiderläuse. 303
Anodonta anatina, Wirt von Pelomyxa palustris. 511

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Anopheles bifurcatus, Ueberwinterung. 260
— maculipennis, Ueberwinterung. 261
— —, geographische Verbreitung. 512
— nigripes, Biologie. 261
— —, Ueberwinterung. 260
Antiformin, Widerstandsfähigkeit säurefester Bakterien gegen dasselbe. 356
—, Wirkung auf Bac. mesentericus. 360
—, Wirkung auf Bac. Möller. 360
—, Wirkung auf Bac. smegmatis. 360
—, Wirkung auf Bac. Tobler. 361
—, Wirkung auf Bac. tubercul. anguis. 361
—, Wirkung auf Bac. tubercul. typ. bovinus. 361
—, Wirkung auf Bac. tubercul. typ. human. 361
—, Wirkung auf Staphylococc. pyog. aureus. 359
Antitoxin, Diphtherie-, Wirkung auf die Gewebsentwickelung in vitro. 19
Appendicitis, Staphylococcus parvulus bei derselben. 121
Argas persicus, Widerstand gegen Fasten. 517
Arvicola arvalis, Wirt von Laelaps agilis. 512
Ascaris lumbricoides, ein Blutsauger. 516
Auge, Leprabacillenvernichtung im Kaninchenauge. 514
Auswurf, Cladothrix in demselben. 512
—, Spirochäten in demselben. 516
—, Streptothrix in demselben. 512
Azethylen, Wirkung auf Kleiderläuse. 303
Bacillol, Wirkung auf Bakterien. 227
Bacillus acidophilus, Vorkommen im Darme der Kälber. 412
— — polymorphus, Vorkommen im Darme der Kälber. 416
— anthracis s. a. Milzbrand.
— —, Abschwächungsversuche bei 42°. 330
— —, Abwehrfermentbildung. 458
— —, Kapselbildung. 330
— —, kapselloser, Eigenschaften. 38
— —, Kultur auf Tierkörpermehl. 518
— —, Mutation. 330
— —, Variation. 38. 330
— —, Wirkung der Temperatur. 330
— —, Zahl und Infektion. 188
— — var. mucosa, Abwehrfermentbildung. 458
— — var. striata, Abwehrfermentbildung. 458
— anthracoides, Abwehrfermentbildung. 458
— aureus, Agglutination, Systematik. 326
— bifidus, Vorkommen im Darme der Kälber. 412
— botulinus, Kultur auf Tierkörpermehl. 518
—, Butter- s. Bacillus Tobler.
— Chauveaui, Kultur auf Tierkörpermehl. 518
— clavatus, Eindringen in die Zahnpulpa auf dem Blutwege. 130
— coli, Agglutination. 247
Bacillus coli, Differenzierung. 247
— —, Gärung. 248
— —, Gasbildung. 247
— — -Gruppe bei Kälberruhr, Untersuchungen. 247
— — —, Vorkommen im Darme der Kälber. 413
— —, Indolbildung. 2
— —, Kultur auf Tierkörpermehl. 518
— —, Tryptophanumsatz. 3
— —, Wachstum auf Rosolsäure-Laktose-Blutagar (Mandelbaum). 89
— —, Wirkung auf die Gewebsentwickelung in vitro. 15
— —, Wirkung von Lysol. 364
— —, Wirkung von Plasma. 20
— —, Wirkung von Thigan. 364
— —, Wirkung ultravioletter Strahlen auf seine Beweglichkeit. 59
— — haemolyticus, Wachstum auf Rosolsäure-Laktose-Blutagar (Mandelbaum). 89
— diphtheriae s. a. Diphtherie.
— —, Indolumsatz. 8
— —, Toxin, Wirkung auf die Gewebsentwickelung in vitro. 19
— —, Wirkung auf die Gewebsentwickelung in vitro. 16
— —, Wirkung von Plasma. 20
— dysenteriae, giftarmer, Agglutination in Patientenseris. 65
— enteritidis Gärtner, Differentialdiagnose. 249
— — —, Gärung. 250
— — —, Indolumsatz. 9
— faecalis alcaligenes, Kulturelles. 555
— fluorescens, Agglutination, Systematisches. 326
— — -Gruppe, Systematik. 321
— — non liquefaciens s. Bacillus putidus.
— fusiformis in der Mundhöhle. 474
—, Gras- s. Bacillus Möller.
—, Hühnercholera-, zur Immunisierung. 442
— leprae, Vernichtung im Kaninchenauge. 514
— mesentericus, Vorkommen im Darme der Kälber. 413
— —, Wirkung von Antiformin. 360
— Möller, Wirkung von Antiformin. 360
— oedematis maligni, Geißelfärbung. 234
— — —, Kultur auf Tierkörpermehl. 518
— paradysenteriae, Agglutination in Patientenseris. 65
— —, Indolbildung. 2
— paratyphi, Wirkung von Thigan. 364
— —, Differentialdiagnose. 249
— —, Gärung. 251
— — -Gruppe bei Kälberpneumonie, Untersuchungen. 249
— — — bei Kälberruhr, Untersuchungen. 249
— —, Indolbildung. 3
— —, Tryptophanumsatz. 3
— —, Wachstum auf Rosolsäure-Laktose-Blutagar (Mandelbaum). 89
— —, Wirkung von Lysol. 364

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bacillus paratyphi, Wirkung ultravioletter Strahlen auf seine Beweglichkeit. 60
—, pestis, Kultur auf Tierkörpermehl. 518
— pneumoniae, Immunisierung und Virulenz. 262
— —, Kultur auf Tierkörpermehl. 518
— —, Virulenz und Immunisierung. 262
— prodigiosus, Eindringen in die Zahnpulpa auf dem Blutwege. 129
— —, Wirkung auf die Gewebsentwickelung in vitro. 16
— —, Wirkung von Plasma. 20
— pseudodiphtheriae, Indolumsatz. 8
— — bei Mastitis. 514
— —, Wirkung auf die Gewebsentwickelung in vitro. 18
— —, Wirkung von Plasma. 20
— pseudopestis, Kultur auf Tierkörpermehl. 518
— putidus, Agglutination, Systematik. 326
— pyocyaneus, Agglutination. 326
— —, Eindringen in die Zahnpulpa auf dem Blutwege. 129
— —, Geißelfärbung. 234
— —, Indolumsatz. 8
— —, Kulturelles. 518. 556
— —, Tryptophanumsatz. 7
— —, Wachstum auf Rosolsäure-Laktose-Blutagar (Mandelbaum). 89
— —, Wirkung von Bacillol. 229
— —, Wirkung von Betalysol. 228
— —, Wirkung von Kreolin. 228
— —, Wirkung von Kresolseifen. 228
— —, Wirkung von Lysol. 228. 365
— —, Wirkung von Phenol. 228
— —, Wirkung von Protargol. 365
— —, Wirkung von Thigan. 365
— smegmatis, Wirkung von Antiformin. 360
— subtilis im Darme der Kälber. 413
— —, Geißelfärbung. 234
— —, Indolumsatz. 8
— —, Wirkung ultravioletter Strahlen auf seine Beweglichkeit. 61
— tetani, Geißelfärbung. 234
— —, Kultur auf Tierkörpermehl. 518
— Tobler, Wirkung von Antiformin. 361
— tuberculosis s. a. Tuberkulose.
— — (typus bovinus), Wirkung von Antiformin. 361
— — (typus humanus), Wirkung von Antiformin. 361
— —, Zahl und Infektion. 185
— — anguis, Wirkung von Antiformin. 361
— typhi s. a. Typhus abdominalis.
— — ähnlicher bei Kälberpneumonie uud -ruhr. 252
— —, Anreicherung. 88. 310
— —, — mittels Serumagars. 307
— —, Geißelfärbung. 234
— —, Indolbildung. 3
— —, Kultur auf Tierkörpermehl. 518
— —, Nachweis mittels Mandelbaumscher Nährböden. 88
— —, Tryptophanumsatz. 3
Bacillus typhi, Wirkung auf die Gewebsentwickelung in vitro. 14
— —, Wirkung von Plasma. 20
— —, Wirkung ultravioletter Strahlen auf seine Beweglichkeit. 57
— — murium, Indolumsatz. 9
— vulgaris s. Proteus vulgaris.
Bacterium coli s. Bacillus coli.
— fluorescens aureum s. Bacillus aureus.
— vulgare s. Proteus vulgaris.
Bakterien, Abbaufermente gegen Zellbestandteile von Bakterien. 456
— Abwehrfermente gegen Zellbestandteile von Bakterien. 456
—, anaërobe, Gasbildung. 120
—, —, der Mundhöhle. 118. 469
—, Beweglichkeit, Wirkung ultravioletter Strahlen. 54
— im Darm von Kälbern. 409
— im Darm von Säuglingen. 411
—, Färbung nach Gram, Technik. 368
—, — —, Theorie. 367
—, Geißelfärbung nach Casares-Gil. 233
—, Hämolyse. 89. 117. 466
— zur Immunisierung, Verhalten von virulenten und abgeschwächten Kulturen. 442
— Indolumsatz. 1
—, autolysierte Kultur, immunisierende Wirkung derselben. 262
—, Kultur auf Tierkörpermehl. 518
—, Morphologie, Bedeutung für die Immunis. und die immunis. Wirkung autolysierter Kulturen. 262
—, Mutation. 330
—, Permeabilität. 374
—, Pseudodiphtherie- s. Bacillus pseudodiphtheriae.
—, säurefeste, Widerstandsfähigkeit gegen Antiformin. 356
—, Systematik. 321
—, Tryptophanumsatz. 1
—, Variation. 23
—, Veränderungen im Tierkörper. 38. 330
—, Virulenz, Bedeutung für Immunis. und die immunis. Wirkung autolysierter Kulturen. 262
—, Wirkung von Bacillol. 227
—, Wirkung von Betalysol. 227
—, Wirkung auf die Gewebsentwickelung in vitro. 12
—, Wirkung von Jod. 374
—, Wirkung von Kreolin. 227
—, Wirkung von Kresolseifen des Handels und des Deutschen Arzneibuches. 226
—, Wirkung von Lysol. 227. 365
—, Wirkung von Phenol. 227
—, Wirkung von Plasma. 20
—, Zahl, Bedeutung für die Infektion. 184
— in der Zahnpulpa, Lokalisation daselbst auf dem Blutwege. 124
Bakteriologie, Materialersparnis bei bakteriol. Untersuchungen. 304
Bakterizidie durch Leukocyten. 538
— durch Plasma. 20
Beckenabszeß, Staphylococcus minimus bei demselben. 122

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Belaustium murorum, geographische Verbreitung. 512
Benzin gegen Kleiderläuse. 303
Bergamottöl gegen Kleiderläuse. 302
Bessarabien, Pellagra. 48
Betalysol, Wirkung auf Bakterien. 227
Blennius trigloides, Haemogregarina Londoni in demselben. 144
Blindschleichen-Tuberkelbacillus s. Bacillus tuberculosis anguis.
Blut-Alkali-Nährboden zum Choleranachweise. 99. 108. 550
Blut, Choleranachweis. 104
Blutsauger, Ascaris lumbricoides ein Blutsauger. 516
Bothriocephalus latus, Fensterung. 521
— —, Mißbildung (Zusammenwachsen zweier Individuen). 519
— parvus, Beschreibung. 522
Bronchitis, durch Spirochäten verursacht. 516
Butterbacillus s. Bacillus Tobler.
Cellitsäckchen als Ersatz für Kollodiumsäckchen. 463
Cestoden, Fensterung. 521
Chironomus annularis, geographische Verbreitung. 512
Cholera s. a. Vibrio cholerae.
—, Diagnose, bakteriol. 97. 108. 305. 392. 550
—, Geflügel- s. Geflügel-Cholera.
—, Hühner- s. Hühner-Cholera.
—, Immunisierung. 288
—-Impfstoff, Gewinnung. 288
—, Massenuntersuchungen auf Keimträger. 392
—, —, Vorrichtung. 305
Cladothrix im Auswurfe. 512
Coccidiasis der Kaninchen, Meningo-myelitis bei derselben. 515
Corethra velutinus, Ueberwinterung. 260
Corynebacterium pseudodiphtheriticum s. Bacillus pseudodiphtheriae.
Ctenotaenia Goezei, geographische Verbreitung. 511
Culex nemorosus, Biologie. 261
— ornata, Ueberwinterung. 261
— pipiens, Ueberwinterung. 261
Culiciden, Biologie. 261
—, Brutplätze. 261
—, Ueberwinterung. 260
Darm, Bac. acidophilus in demselben. 412
—, — — polymorphus in demselben. 416
—, — bifidus in demselben. 412
—, — coli-Gruppe in demselben. 413
—, — mesentericus in demselben. 413
—, — subtilis in demselben. 413
—, Bakterien in demselben bei Kälbern. 409
—, — in demselben bei Säuglingen. 411
—, Choleranachweis. 97
—, Schimmelpilze in demselben. 420
—, Streptococcus acidi lactis in demselben. 420
Desinfektion mit Thigan. 363
Dichlorbenzol gegen Kleiderläuse. 303
Dieudonnés Choleraelektivnährboden, Prüfung. 555
Diphtherie s. a. Bacillus diphtheriae.
—-Antitoxin, Wirkung auf die Gewebsentwickelung in vitro. 19
—-Toxin, Wirkung auf die Gewebsentwickelung in vitro. 19
Diplococcus, anaërober, aus dem Zahnbelag, Eigenschaften. 118
— exanthematicus, Ursache des Typhus exanthematicus. 51
— magnus anaerobius, Eigenschaften, Vorkommen. 121
— orbiculus, Eigenschaften, Vorkommen. 121
— reniformis, Eigenschaften, Vorkommen. 121
Döhlsche Leukocyteneinschlüsse, Färbung 517
Drigalski-Schalen zur Typhus- und Cholera-Impfstoff-Gewinnung. 288
Druse-Streptococcus, Hämolyse. 117
— —, Kulturelles. 115
— —, Pathogenität. 117
— —, Spezifizität. 111
— —, Vergärungsvermögen gegenüber Kohlehydraten. 111
Dunkelfeld, künstliches, Untersuchung in demselben. 235
Eigelb-Nukleoproteid, Wutimmunisierung. 440
Eimeria stiedai, Darminfektion bei Kaninchen. 516
Einschlüsse, Zell-, bei Psoriasis. 515
Einschlußkörperchen bei Staupe. 495
Eiter, Micrococcus foetidus aus demselben. 122
—, Staphylococcus minimus aus demselben. 122
—, — parvulus aus demselben. 121
Elektivnährboden, Cholera- 99. 108. 550
— für Typhusbacillen. 306
Ente, Nervensubstanz zur Wutimmunisierung. 434
Erbrochenes, Choleranachweis. 97
Ersparnis, Material-, bei bakteriologischen Untersuchungen. 304
Eukalyptusöl gegen Kleiderläuse. 302
Faeces, Choleranachweis. 97
—, Diplococcus orbiculus in denselben. 121
Färbung der Döhlschen Leukocyteneinschlüsse. 517
— der Geißeln durch Bakterien nach Casares-Gil. 233
—, Gramsche, Technik. 368
—, Gramsche, Theorie. 367
— von Lungenwürmer-Embryonen, -Larven usw. 175
Fasten, Widerstand von Ixodes ricinus, Argas persicus und Pediculus cervicalis gegen dasselbe. 517
Fenchelöl gegen Kleiderläuse. 302
Fermente, Abbau- s. Abbaufermente.
Fettsäuren gegen Kleiderläuse. 303
Fische, See-, Hämogregarinen derselben. 135

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fische, See-, Trypanosomen derselben. 135
Fixierung von Lungenwürmer-Embryonen, -Larven usw. 175
Fleckfieber s. Typhus exanthematicus.
Fleisch, faulendes, Diplococcus magnus anaerobius in demselben. 121
Formaldehyd, Wirkung auf Kleiderläuse. 303
Frösche, Hühnerpestvirusverhalten in denselben. 482
Gärung durch Druse-Streptococcus. 111
Gangrän der Zahn-Pulpa. 125
Gans, Hühnerpestinfektion. 343
—, Hühnerpestvirusverhalten in derselben. 484
—, Nervensubstanz zur Wutimmunisierung. 434
Gas, Bildung durch B. coli. 247
Gaultheriaöl gegen Kleiderläuse. 302
Geflügel-Cholera, Immunität, Uebertragung von Mutter auf Nachkommen. 196
Geißeln, Bakterien-, Färbung nach Casares-Gil. 233
Gewebe, Wirkung von Bakterien auf deren Entwickelung in vitro. 12
Glandula submaxillaris bei Wut, Veränderungen. 406
Glyciphagen, Jucken durch dieselben verursacht. 517
Gobius aurantus, Haemogregarina Hartochi in demselben. 142
— capito, Haemogregarina Yakimowi-Kohl in demselben. 136
— cruentatus, Haemogregarina Wladimirovi in demselben. 140
— jozo, Haemogregarina Marzinowskii in demselben. 143
Gonokokken s. Micrococcus gonococcus.
Gonorrhöe s. a. Micrococcus gonococcus.
—, Behandlung mit Thigan. 363
Gramsche Färbung, Technik. 368
— —, Theorie. 367
Gras-Bacillus s. Bacillus Möller.
Haematopinus suis, Biologie. 535
Hämoglobin-Extrakt-Sodaagar, Choleraelektivnährboden. 553
Haemogregarina bigemina, Beschreibung, Vorkommen. 135
— blanchardi, Beschreibung, Vorkommen. 135
— callionymi, Beschreibung, Vorkommen. 135
— clavata, Beschreibung, Vorkommen. 136. 145
— cotti, Beschreibung, Vorkommen. 135
— delagei, Beschreibung, Vorkommen. 135
— flesi, Beschreibung, Vorkommen. 135
— gobii, Beschreibung, Vorkommen. 135
— Hartochi n. sp., Morphologie, Entwickelung. 142
— laternae, Beschreibung, Vorkommen. 135
— Lo Bianci n. sp., Morphologie. 144
— Londoni n. sp., Morphologie, Entwickelung. 144
— Marzinowskii n. sp., Morphologie, Entwickelung. 143
Haemogregarina minuta, Beschreibung, Vorkommen. 136
— platessae, Beschreibung, Vorkommen. 135
— polypartita, Beschreibung, Vorkommen. 136. 146
— quadrigemina, Beschreibung, Vorkommen. 135
— scorpaenae, Beschreibung, Vorkommen. 136
— simondi, Beschreibung, Vorkommen. 135
— torpedinis, Beschreibung, Vorkommen. 136
— Wladimirovi n. sp., Morphologie, Entwickelung usw. 140
— Yakimowi-Kohl n. sp., Entwickelung. 138
— — n. sp., Infektionsversuche. 139
— — n. sp., Morphologie. 136
— — n. sp., Systematisches. 139
Hämogregarinen der Seefische. 135
Hämolyse durch Bac. coli haemolyt. 89
— durch Streptococcus der Druse. 117
— durch Vibrio cholerae Łobzów. 466
Hammel, Hoden-Nukleoproteid, Wutimmunisierung. 440
Hasen, Strongylus commutatus in der Lunge derselben. 164
Hexamethylentetramin gegen Hühnerpest. 490
Hirn-Abszeß, Diplococcus reniformis aus demselben. 121
—-Nukleoproteid, Wutimmunisierung. 439
Hoden-Nukleoproteid, Wutimmunisierung. 440
Hofer-Hovorkas Choleraelektivnährboden, Prüfung. 555
Hühner-Cholera s. Hühnercholera.
Hühner, Nervensubstanz zur Wutimmunisierung. 434
Hühner-Pest s. Hühnerpest.
Hühner, Tuberkulinreaktion, intrakutane. 275
—, Tuberkulose, Diagnose mittels intrakutaner Tuberkulinreaktion. 275
Hühnercholera, Immunisierung gegen dieselbe. 442
Hühnerpest, Behandlung mit Hexamethylentetramin. 490
—, Behandlung mit Optochin. 490
—, Behandlung mit Salizylnatron. 490
—, Behandlung mit Salvarsan. 490
—, Behandlung mit Serum. 347
—, Gänseinfektion. 343
—, Immunisierung. 345
—, Immunität. 477
—, Taubeninfektion. 344
—-Virus, Filtrierbarkeit. 488
— —, Infektiosität. 491
— —, Resistenz. 493
— —, Varietät. 343
— —, Verhalten in Fröschen. 482
— —, Verhalten in Gänsen. 484
— —, Verhalten in Kaninchen. 477
— —, Verhalten in Meerschweinchen. 478
— —, Verhalten in Tauben. 486

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hühnerpest-Virus, Zerstörung durch Organzellen und Körperflüssigkeiten immuner Tiere. 492
Hunde-Staupe s. Staupe.
Hunde, Tuberkulose. 401
—, Wut s. Wut.
Igel, Staupeinfektion. 507
Immunisierung mit Bac. pneumoniae. 262
— mit virulenten und abgeschwächten Bakterien-Kulturen. 442
— und Bakterien-Virulenz und -Morphologie. 262
— gegen Cholera. 288
— gegen Hühnercholera. 442
— gegen Hühnerpest. 345
— gegen Typhus abdominalis. 288
— gegen Wut. 178
— gegen Wut, Mechanismus. 434. 436
— gegen Wut mittels Nervensubstanz von Huhn, Ente, Gans. 434
— gegen Wut mittels Speichels und Speicheldrüsen. 349
Immunität, Geflügelcholera-, Uebertragung von Mutter auf Nachkommen. 196
— gegen Hühnerpest. 477
—, Pneumokokken-, Rolle der Leukocyten. 537
Indol, Bestimmung. 2
—-Bildung durch Bakterien. 1
Infektion und Keimzahl, Bedeutung derselben. 184
Jod, Wirkung auf Bakterien. 374
Jucken, durch Glyciphagen verursacht. 517
Ixodes ricinus, Widerstand gegen Fasten. 517
Kabeshimas Choleraelektivnährboden, Prüfung. 555
Kälber, Bakterien im Darme derselben. 409
—-Pneumonie, Bac. paratyphi als Erreger. 249
— —, Bac. typhi-ähnlicher als Erreger. 252
—-Ruhr, Bacillus coli als Erreger. 245
— —, Bac. paratyphi als Erreger. 249
— —, Bac. typhi-ähnlicher als Erreger. 252
Kampferöl gegen Kleiderläuse. 302
Kaninchen, Eimeria stiedai im Darme derselben. 516
—, Geflügelcholera-Immunität, Uebertragung von Mutter auf Kind. 196
—, Hühnerpestvirusverhalten in denselben. 477
—, Krätze, durch Sarcoptes minor und Psoroptes communis verursacht. 517
—, Leprabacillenvernichtung im Kaninchenauge. 514
—, Meningo-myelitis bei Coccidiasis 515
Kapsel, Bildung bei Bac. anthracis. 330
Karbolsäure, Wirkung auf Bakterien 227
Karbolwasser gegen Kleiderläuse 303
Keimzahl und Infektion 184
Kleiderlaus s. Pediculus vestimenti.
Körper, Veränderungen von Bakterien in demselben. 38. 330
Körperchen, Einschluß- s. Einschlußkörperchen.
—, Negrische s. Negrische Körperchen.
Koffein zur Typhusbacillenanreicherung. 311
Kohlehydrate, Vergärung durch Druse-Streptococcus. 111
Kokken, Vorkommen im Darme der Kälber. 419
Kollodiumsäckchen, Cellitsäckchen als Ersatz derselben. 463
Komplementbindung Wassermann bei Typhus exanthematicus. 50
Krätze bei Kaninchen, durch Sarcoptes minor und Psoroptes communis verursacht. 517
Kreolin, Wirkung auf Bakterien. 227
Kresolpuder gegen Kleiderläuse. 303
Kresolseifen d. Handels u. d. Deutsch. Arzneibuches, 4. u. 5. Ausg., Chemisches. 214
— d. Handels u. d. Deutsch. Arzneibuches, 4. u. 5. Ausg., Geschichtliches. 206
— d. Handels u. d. Deutsch. Arzneibuches, 4. u. 5. Ausg., Wirkung auf Bakterien. 226
— gegen Kleiderläuse. 303
Küken-Plasma, Wirkung auf Bakterien. 20
Laelaps agilis, geograph. Verbreitung. 512
Laus, Kleider- s. Pediculus vestimenti.
—, Schweine- s. Haematopinus suis.
Leber-Tuberkulose beim Schweine. 401
Lepra-Bacillus s. Bacillus leprae.
Lepus cuniculus, Wirt von Ctenotaenia Goezei. 511
— timidus, Wirt von Trichocephalus unguiculatus. 512
Leuchtgas, Wirkung auf Kleiderläuse. 303
Leukocyten, Bakterizidie. 538
—-Einschlüsse, Döhlsche, Färbung. 517
—-Extrakt, Wirkung auf Pneumokokken. 542
—, Gewinnungsmethode. 548
— und Pneumokokken-Immunität. 537
—, Wirkung auf Pneumokokken. 538
Limnaea truncatula, Bekämpfung. 517
Liquor cresoli saponatus s. Kresolseifen.
Loeffler, Friedrich (Nachruf). 241
Lungen-Krankheiten und Cladothrix. 512
— — und Streptothrix. 512
—, Strongylus capillaris in denselben bei Ziegen. 165
—, — commutatus in denselben beim Hasen. 164
—, — filaria in denselben beim Rinde. 158
—, — micrurus in denselben beim Reh. 149
—, — paradoxus in denselben beim Wildschwein. 161
—-Würmer s. Würmer, Lungen- und Strongylus.
Lyctocoris campestris, geogr. Verbreitung. 512
Lysol, Wirkung auf Bac. coli. 364
—, Wirkung auf Bac. paratyphi. 364
—, Wirkung auf Bac. pyocyaneus. 228. 365
—, Wirkung auf Bakterien. 227
—, Wirkung auf Staphylokokken. 365

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lysol, Wirkung auf Streptokokken. 365
Lyssa s. Wut.
Malaria-Parasiten, eigenartige Formen. 384
Maltose, Wirkung auf die Indolbildung. 11
Mandelbaumsche Typhusnährböden, Wert. 88
Mastitis, Corynebacterium pseudodiphtheriticum bei derselben. 514
Material-Ersparnis bei bakteriologischen Untersuchungen. 304
Meerschweinchen, Hühnerpestvirusverhalten in denselben. 478
Mehl, Tierkörper-, als Bakteriennährboden. 518
Meningo-myelitis bei Coccidiasis der Kaninchen. 515
Menopon pallescens, geogr. Verbreitung. 512
— parvulum, geogr. Verbreitung. 512
Menthol gegen Kleiderläuse. 303
Micrococcus, anaërober, aus dem Zahnbelag, Eigenschaften. 118
— aureus, Wirkung auf die Gewebsentwickelung in vitro. 16
— —, Wirkung von Plasma. 20
— foetidus, Eigenschaften. 122
— gazogenes alcalescens anaerobius, Eigenschaften. 122
— gonococcus s. a. Gonorrhöe.
— —, Wirkung von Protargol. 366
— —, Wirkung von Thigan. 366
— melitensis, Kultur auf Tierkörpermehl. 518
— pyogenes, Kultur auf Tierkörpermehl. 518
— tetragenus, Kultur auf Tierkörpermehl. 518
Mikroben s. a. Bakterien.
Mikroorganismen, Systematik. 321
Milchzucker, Wirkung auf die Indolbildung. 10
Milzbrand s. a. Bacillus anthracis.
—, Zahl der Keime und Infektion. 188
Miniaturnährböden. 305
Molluscum contagiosum, Erreger. 257
Mundhöhle, Bacillus fusiformis in derselben. 474
—, Bakterien, anaërobe, derselben. 118. 469
—, Micrococc. gazogen. alcal. anaerob. in derselben. 122
—, Spirochäte in derselben, Eigenschaften. 469
Mus musculus, Wirt von Laelaps agilis. 512
— rattus, Tuberkulose. 513
— silvaticus, Wirt von Laelaps agilis. 512
Mustela martes, Wirt von Saccharomyces guttulatus. 511
Mutation bei Bac. anthracis. 330
Nährböden, Miniatur-. 305
—, Typhus-, Mandelbaumscher, Wert. 88
Naphthalin gegen Kleiderläuse. 303
Negrische Körperchen in den Speicheldrüsen bei Wut. 404
Nerven-Substanz zur Immunisierung gegen Wut. 434
— —-Nukleoproteid, Wutimmunisierung. 439
— — bei Wut, Virulenz. 178
Nukleoproteid des Eigelbs, Wutimmunisierung. 440
— der Hirnsubstanz, Wutimmunisierung. 439
— des Hodens des Widders und Hammels, Wutimmunisierung. 440
— der Nervensubstanz, Wutimmunisierung. 437
Oele, ätherische, gegen Kleiderläuse. 302
Optochin gegen Hühnerpest. 490
Oxyuris ambigua, geogr. Verbreitung. 512
Paradysenterie-Bacillus s. Bacillus paradysenteriae.
Parasiten, geographische Verbeitung. 511
Parotis bei Wut, Veränderungen. 404
Pediculus cervicalis, Widerstand gegen Fasten. 517
— vestimenti, Aufzucht. 523
— —, Bekämpfung. 294
— —, Eiablage. 527
— —, Eientwickelung. 529
— —, Entwickelung. 525
— —, Ernährung. 531
— —, Färbungsanomalien. 533
— —, Kopulation. 527
— —, Lebensdauer. 527
— —, Morphologie und Biologie. 295
— —, Präparation der inneren Organe. 534
— —, Sinnesschärfe. 533
— —, Uebertragung des Typhus exanth. 300
Pellagra s. a. Streptobacillus pellagrae.
—, durch Streptobacillus pellagrae verursacht. 47. 49
—, Vorkommen in Bessarabien. 48
Pelomyxa palustris, geogr. Verbreitung. 511
Perdix cinerea, Wirt von Menopon pallescens. 512
Permeabilität der Bakterien. 374
Perubalsam gegen Kleiderläuse. 303
Pest, Hühner- s. Hühnerpest.
Petroleum-Beleuchtung, Thermoregulator für P.-B. 237
— gegen Kleiderläuse. 303
Pfeffer gegen Kleiderläuse. 303
Pferde, Druse-Streptococcus. 111
—, Wirte von Lyctocoris campestris. 512
Phenol, Wirkung auf Bakterien. 227
Pilons Choleraelektivnährboden, Prüfung. 555
Plasma, Wirkung auf Bac. coli. 20
—, Wirkung auf Bac. diphtheriae. 20
—, Wirkung auf Bac. prodigiosus. 20
—, Wirkung auf Bac. pseudodiphtheriae. 20
—, Wirkung auf Bac. typhi. 20
—, Wirkung auf Micrococcus aureus. 20
Plasmodium camaranense, Beschreibung. 388
— khartunense s. Plasmodium tenue.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Plasmodium tenue, Beschreibung, Kritik. 386
— vivax var. minuta, Beschreibung, Kritik. 387
Pneumococcus-Immunität, Rolle der Leukocyten. 537
—, Wirkung von Leukocyten. 538
—, Wirkung von Leukocyten-Extrakt. 542
Pneumonie, Kälber- s. Kälber-Pneumonie.
Protargol, Wirkung auf Bac. pyocyaneus. 365
—, Wirkung auf Gonokokken. 366
—, Wirkung auf Staphylokokken. 366
Proteus, Agglutination, Systematik. 326
—, Geißelfärbung. 234
—, Indolbildung. 2
—, Indolumsatz. 8
—, Kulturelles. 518. 557
—, Tryptophanumsatz. 7
Pseudodiphtherie-Bacillen s. Bac. pseudodiphtheriae.
Psoriasis, Zelleinschlüsse. 515
Psoroptes communis, Krätzeerreger bei Kaninchen. 517
Puerperalerkrankungen, Staphylococcus aërogenes bei denselben. 123
Pulpa, Zahn- s. Zahn-Pulpa.
Quecksilber gegen Kleiderläuse. 303
Ratten, Tuberkulose. 513
—, Xenopsylla cheopis auf denselben. 512
Regulator, Thermo-, für Petroleumbeleuchtung. 237
Reh, Strongylus micrurus in der Lunge desselben. 149
Riechstoff, Bildung durch Spirochäten der Mundhöhle. 474
Rinder, Strongylus filaria in der Lunge derselben. 158
—-Tuberkulin und Vogel-Tuberkulin, Vergleich bei Intrakutanreaktion bei Hühnern. 286
Rosmarinöl gegen Kleiderläuse. 302
Rosolsäure-Laktose-Blutagar-Typhus-Nährboden (Mandelbaum), Wert. 88
Ruhr s. a. Bac. dysenteriae.
—, bakterielle, Serumdiagnose. 77
—, Kälber- s. Kälber-Ruhr.
Saccharomyces guttulatus, geogr. Verbreitung. 511
Saccharose, Wirkung auf die Indolbildung. 11
Säckchen, Cellit-, als Ersatz für Kollodiumsäckchen. 463
Säugling, Bakterien im Darm desselben. 411
Säure, schweflige, gegen Kleiderläuse. 303
Salizylnatron gegen Hühnerpest. 490
Salvarsan gegen Hühnerpest. 490
Sarcoptes minor, Krätzeerreger bei Kaninchen. 517
Saugkälber, Bakterien im Darme derselben. 411
Schaf s. a. Hammel, Widder.
Schalen, Drigalski-, zur Typhus- und Cholera-Impfstoff-Gewinnung. 288
Schimmelpilze, Vorkommen im Darme der Kälber. 420
Schwefel, gefällter, gegen Kleiderläuse. 303
Schwefeläther gegen Kleiderläuse. 303
Schwefelkohlenstoff gegen Kleiderläuse. 303
Schweflige Säure gegen Kleiderläuse. 303
Schweine-Laus s. Haematopinus suis.
Schweine, Tuberkulose der Leber. 401
—, Wild-, Strongylus paradoxus in der Lunge derselben. 161
See-Fische, Hämogregarinen derselben. 135
Seifen, Kresol- s. Kresolseifen.
Serum-Agar zur Typhusbacillenanreicherung. 307
Serum, Ruhragglutinine in demselben. 67
Serumbehandlung der Hühnerpest. 347
Serumdiagnose der Ruhr, bakteriellen. 77
Solea lutea, Haemogregarina clavata in derselben. 136. 145
Speichel, rabischer, Immunisierung gegen Wut. 349
—, rabischer, Virulenz. 178
Speicheldrüsen, rabische, Immunisierung gegen Wut. 349
— —, Veränderungen. 403
— —, Virulenz. 178
Spirillum fluorescens s. Vibrio fluorescens.
Spirochaete bronchialis. 516
— denticola s. dentium, Eigenschaften. 475
— macrodentium, Kultur. 475
— microdentium, Kultur. 475
Spirochäte der Mundhöhle, Kulturelles, Morphologie und Pathogenität. 469
Spirochäten, Kultur. 469
Spirochaetiasis bronchialis. 516
Staphylococcus aërogenes, Eigenschaften. 123
— minimus, Eigenschaften. 122
— parvulus, Eigenschaften. 121
— pyogenes aureus, Indolumsatz. 8
— — —, Lokalisation in der Zahnpulpa auf dem Blutwege. 128
— — —, Tryptophanumsatz. 7
— — —, Wirkung von Antiformin. 359
Staphylokokken, Wachstum auf Rosolsäure-Laktose-Blutagar (Mandelbaum). 89
—, Wirkung von Lysol. 365
—, Wirkung von Protargol. 366
—, Wirkung von Thigan. 365
Staupe, Einschlußkörperchen. 495
—, Igelinfektion. 507
Strahlen, ultraviolette, Wirkung auf die Beweglichkeit von Bakterien. 54
Streptobacillus pellagrae s. a. Pellagra.
— —, Eigenschaften. 47. 49
— —, Klassifikation. 48
— —, Pellagra, Ursache derselben. 47. 49
— —, Pleomorphismus. 47. 49
Streptococcus acidi lactis, Vorkommen im Darme der Kälber. 420
—, Druse-, Hämolyse. 117
—, Druse-, Kulturelles. 115
—, Druse-, Pathogenität. 117
—, Druse-, Spezifizität. 111

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:27 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Streptococcus, Druse-, Vergärungsvermögen gegenüber Kohlehydraten. 111
— equi s. Druse-Streptococcus.
— pyogenes, Kultur auf Tierkörpermehl. 518
Streptokokken, Wachstum auf Rosolsäure-Laktose-Blutagar (Mandelbaum). 89
—, Wirkung von Lysol. 365
—, Wirkung von Thigan. 365
Streptothrix im Auswurfe. 512
Strongylus capillaris, Eier. 167
— —, Embryonen. 168
— —, freilebende Generation, Entwickelung, Morphologie. 165
— commutatus, Eier. 167
— —, Embryonen. 168
— —, freilebende Generation, Entwickelung, Morphologie. 164
— filaria, Eier. 167
— —, Embryonen. 168
— —, freilebende Generation, Entwickelung, Morphologie. 158
— micrurus, Eier. 167
— —, Embryonen. 168
— —, freilebende Generation, Entwickelung, Morphologie. 149
— paradoxus, Eier. 167
— —, Embryonen. 168
— —, freilebende Generation, Entwickelung, Morphologie. 161
Sublimat gegen Kleiderläuse. 303
Submaxillaris s. Glandula submaxillaris.
Tabakbrühe gegen Kleiderläuse. 303
Taenia saginata, Mißbildung. 516
Talpa europaea, Wirt von Belaustium murorum. 512
Tauben, Hühnerpestinfektion. 344
—, Hühnerpestvirusverhalten in dens. 486
Temperatur, Wirkung auf Bac. anthracis 330
Terpentinöl gegen Kleiderläuse. 303
Tetrachlorkohlenstoff gegen Kleiderläuse. 303
Thermoregulator für Petroleumbeleuchtung. 237
Thigan, Desinfektionskraft. 363
— gegen Gonorrhöe. 363
—, Wirkung auf Bac. coli. 364
—, — auf Bac. paratyphi. 364
—, — auf Bac. pyocyaneus. 365
—, — auf Gonokokken. 366
—, — auf Staphylokokken. 365
—, — auf Streptokokken. 365
Tierkörper, Veränderungen von Bakterien in demselben. 38. 330
Tierkörpermehl als Bakteriennährboden. 518
Torpedo marmorata, Haemogregarina Lo Bianci in derselben. 144
Toxin des Bac. diphtheriae, Wirkung auf d. Gewebsentwickelung in vitro. 19
Trachom-Körperchen. 515
Traubenzucker, Wirkung auf d. Indolbildung. 10
Treponema s. Spirochaete.
Trichocephalus unguiculatus, geogr. Verbreitung. 512
Trypanosomen der Fische. 135
Tryptophan, Bestimmung. 2
—-Umsatz der Bakterien. 1
Tuberkulin, Rinder- u. Vogel-, Vergleich bei Intrakutanreaktion bei Hühnern. 286
Tuberkulination s. Tuberkulinreaktion.
Tuberkulinreaktion, intrakutane, bei Hühnern. 275
Tuberkulose s. a. Bacillus tuberculosis.
—, Blindschleichen-, -Bacillus s. Bacillus tuberculosis anguis.
— bei Cercopithecus fuliginosus. 513
— — Hühnern, Diagnose mittels intrakutaner Tuberkulinreaktion. 275
— des Hundes. 401
—, Infektionsweg. 401
— d. Leber b. Schweine. 401
— bei Mus rattus. 513
—, Zahl d. Keime und Infektion. 185
Typhus abdominalis s. a. Bacillus typhi.
— —, Diagnose, bakteriol. 88. 306
— —, Immunisierung. 288
— —-Impfstoff, Gewinnung. 288
— exanthematicus, durch Diplococcus exanthematicus verursacht. 51
— —, Uebertragung durch Pedicul. vestimenti. 300
— —, Wassermannsche Reaktion. 50
Ueberwinterung der Culiciden. 260
Ultraviolette Strahlen, Wirkung auf d. Beweglichkeit d. Bakterien. 54
Variation bei Bac. anthracis. 330
— — Vibrio cholerae. 23
Verruca Porro, besondere Körperchen in derselb. 257
Vibrio cholerae s. a. Cholera.
— — ähnlicher (Łobzów), Eigenschaften. 465
— — ähnliche, Indolbildung. 2
— — —, Kulturelles. 555
— —, Agglutination. 106
— —, Anreicherung. 99. 108. 305. 392. 550
— —, — mittels Blutalkali-Nährböden. 99. 108. 550
— —, Elektivnährböden. 99. 108. 550
— —, Geißelfärbung. 234
— —, Indolbildung. 2
— —, Kulturelles. 25. 518
— —, Nachweis. 98. 108. 305. 392. 550
— —, — im Blute. 104
— —, — in Darmteilen. 97
— —, — in Erbrochenem. 97
— —, — in den Faeces. 97
— —, — (Massenuntersuchung). 392
— —-Träger, Massenuntersuchung. 392
— —, Tryptophanumsatz. 3
— —, Variation. 23
— —, Virulenz. 30
— —, Wirkung ultravioletter Strahlen auf s. Beweglichkeit. 58
— fluorescens, Agglutination, Systematik. 326
— proteus, Agglutination, Systematik. 326
— saprophiles, Agglutination, Systematik. 326
—, Wasser-, Indolumsatz. 8

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Vogel-Tuberkulin u. Rinder-Tuberkulin, Vergleich bei Intrakutanreaktion bei Hühnern. 286
Wasser-Vibrio, Indolumsatz. 8
Wassermannsche Reaktion bei Typhus exanthematicus. 50
Warze s. a. Verruca Porro.
Widder-, Hoden-Nukleoproteid, Wutimmunisierung. 440
Wildschwein, Strongylus paradoxus in d. Lunge desselb. 161
Würmer, Lungen-, Entwickelung der freilebenden Generationen. 147
—, —, Färbung u. Fixierung von Embryonen, Larven usw. 175
Wut, Immunisierung. 178
—, —, Mechanismus. 434. 436
—, — mittels Nervensubstanz von Huhn, Ente, Gans. 434
—, — mit dem Nukleoproteid des Eigelbs. 440
—, — mit d. Nukleoproteid d. Hirnsubstanz. 439
—, — mit d. Nukleoproteid d. Hodens d. Widders u. d. Hammels. 440
—, — mit dem Nukleoproteid der Nervensubstanz. 437
—, — mit Speichel, rabischem. 349
—, — mit Speicheldrüsen, rabischen. 349
—, Negrische Körperchen in den Speicheldrüsen. 404
—, Nervensubstanz-Virulenz. 178
—, Speicheldrüsen-Veränderungen. 403
—, Speicheldrüsen-Virulenz. 178
—, Speichel-Virulenz. 178
—-Virus, Wirkung des Nukleoproteids des Eigelbs. 440
— —, Wirkung des Nukleoproteids der Hirnsubstanz. 439
— —, Wirkung des Nukleoproteids des Hodens des Widders und Hammels. 440
— —, Wirkung des Nukleoproteids der Nervensubstanz. 439
Xenopsylla cheopis, geogr. Verbreitung. 512
Zahn-Belag, Micrococcus aus demselben. 118
— —, Spirochäte desselben, Eigenschaften. 469
—-Pulpa, Bakterienlokalisationen auf dem Blutwege. 124
—-—, Gangrän. 125
Zelleinschlüsse bei Psoriasis. 515
Ziegen, Strongylus capillaris in der Lunge derselben. 165
Zucker, Vergärung durch Bac. coli. 248
—, Vergärung durch Bac. enteritidis Gärtner. 250
—, Vergärung durch Bac. paratyphi. 251
—, Wirkung auf die Indolbildung. 9

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Apparat zur Verwendung von Drigalski-Schalen zur Gewinnung von Typhus- und Cholera-Impfstoff. 290—292
Bacillus acidophilus polymorphus, Morphologie. 417. 418
— diphtheriae, Wirkung auf die Herzgewebsentwickelung in vitro. (Taf.) 22
— —, Wirkung auf die Milzgewebsentwickelung in vitro. (Taf.) 22
— fusiformis, Reinkultur. 473
— typhi, Wirkung auf die Herzgewebsentwickelung in vitro. (Taf.) 22
Bakterien im Kälberdarm. 417—419
—, Wirkung auf die Gewebsentwickelung in vitro. 22
Blennius trigloides, Haemogregarina Londoni in demselben. (Taf. IV.) 146
Bothriocephalus latus, Fensterung. 521
— —, Mißbildung (Diëder). 520
— parvus, Kettenfragment. 522
Cestoden, Fensterung. 521
Cholera-Impfstoff, Apparat zur Gewinnung desselben. 290—292
—, Massenuntersuchung. 306. 393. 395. 397
Darm, Kälber-, Bakterien in demselben. 417—419
Diplococcus, anaërober, aus dem Zahnbelag, Kulturelles und Morphologie. 119
Drigalski-Schalen zur Gewinnung von Typhus- und Cholera-Impfstoff. 290—292
Druse-Streptococcus, Kulturelles. 116
Einschlußkörperchen bei Staupe. (Taf. I—III.) 510
Fensterung bei Bothriocephalus latus. 521
Fische, See-, Hämogregarinen derselben. (Taf. I—IV.) 146
Gewebsentwickelung in vitro, Wirkung von Bakterien. (Taf.) 22
Gobius aurantus, Haemogregarina Hartochi n. sp. in demselben. (Taf. III.) 146
— capito, Haemogregarina Yakimowi-Kohl n. sp. in demselben. (Taf. I.) 146
— cruentatus, Haemogregarina Wladimirowi n. sp. in demselben. (Taf. II.) 146
— jozo, Haemogregarina Marzinowskii n. sp. in demselben. (Taf. III.) 146
Haemogregarina clavata, Morphologie, Entwickelung. (Taf. II.) 146
— Hartochi n. sp., Morphologie, Entwickelung. (Taf. III.) 146
— Lo Bianci n. sp., Merozoiten. (Taf. IV.) 146
— Londoni n. sp., Morphologie. (Taf. IV.) 146
— Marzinowskii n. sp., Morphologie, Entwickelung. (Taf. III.) 146
— Wladimirowi n. sp., Morphologie, Entwickelung. (Taf. II.) 146

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Haemogregarina Yakimowi-Kohl n. sp., Morphologie, Entwickelung. (Taf. I.) 146
Herz-Gewebe, Wirkung von Bac. diphtheriae auf seine Entwickelung in vitro. (Taf.) 22
— —, Wirkung von Bac. typhi auf seine Entwickelung in vitro. (Taf.) 22
— —, Wirkung von Micrococcus aureus auf seine Entwickelung in vitro. (Taf.) 22
Hundestaupe, Einschlußkörperchen. (Taf. I—III.) 510
Kälber-Darm, Bakterien in demselben. 417—419
Kleiderlaus s. Pediculus vestimenti.
Laus, Kleider- s. Pediculus vestimenti.
Lungen-Würmer, Entwickelung der freilebenden Generationen. (Taf. I—IV.) 176
Materialersparnis bei bakteriologischen Untersuchungen. 304
Micrococcus, anaërober, aus dem Zahnbelag, Kulturelles und Morphologie. 119
— aureus, Wirkung auf die Herzgewebsentwickelung in vitro. (Taf.) 22
— —, Wirkung auf die Milzgewebsentwickelung in vitro. (Taf.) 22
Milzgewebe, Wirkung von Bac. diphtheriae auf seine Entwickelung in vitro. (Taf.) 22
—, Wirkung von Micrococcus aureus auf seine Entwickelung in vitro. (Taf.) 22
Miniaturnährböden. 304
Nährböden, Miniatur-. 304
Pediculus vestimenti, Anatomie. 295—302
Petroleumbeleuchtung, improvisierbarer Thermoregulator für —. 238
Plasmodium camaranense, Morphol. (Taf.) 391
— khartunense s. Plasmodium tenue.
— tenue, Morphol. (Taf.) 391
Regulator, Thermo-, improvisierbarer, für Petroleumbeleuchtung. 238
Röhrchen, Miniatur-. 304
Seefische, Hämogregarinen derselben. (Taf. I—IV.) 146
Solea lutea, Haemogregarina clavata in derselben. (Taf. II.) 146
Speicheldrüsen bei Wut. (Taf.) 408
Spirochäte aus der Mundhöhle, Kultur u. Morphol. 472
Staupe, Einschlußkörperchen. (Taf. I—III.) 510
Streptococcus, Druse-, Kulturelles. 116
Strongylus capillaris, Ei. (Taf. IV.) 177
— —, freilebende Generation, Entwickelung, Morphol. (Taf. IV.) 177
— commutatus, Eier. (Taf. III.) 177
— —, freilebende Generation, Entwickelung, Morphol. (Taf. III.) 177
— filaria, Eier. (Taf. II.) 177
— —, freilebende Generation, Entwickelung, Morphol. (Taf. II.) 177
— micrurus, Eier. (Taf. I.) 176
— —, freilebende Generation, Entwickelung, Morphol. (Taf. I.) 176
— paradoxus, Eier. (Taf. III.) 177
— —, freilebende Generation, Entwickelung, Morphol. (Taf. III.) 177
Thermoregulator, improvisierbarer, für Petroleumbeleuchtung. 238
Torpedo marmorata, Haemogregarina Lo Bianci in derselben. (Taf. IV.) 146
Typhusimpfstoff, Apparat zur Gewinnung desselben. 290—292
Verruca Porro, mikroskopischer Befund. (Taf.) 259
Warze, mikroskopischer Befund. (Taf.) 259
Würmer, Lungen-, Entwickelung der freilebenden Generationen. (Taf. I—IV.) 176
Wut, Speicheldrüsen bei derselben. (Taf.) 408

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4520

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN
Generated on 2019-09-15 16:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

CE
Nathist
2a
76
8

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Erste Abteilung:

Mediz.-hygien. Bakteriologie u. tier. Parasitenkunde

Originale

UNIVERSITY OF ILLINOIS LIBRARY
JAN 10 1916

In Verbindung mit

Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. R. Abel, Jena.

Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer, Breslau — Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. M. Braun, Königsberg i. Pr.

herausgegeben von

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. O. Uhlworm, Berlin W. 15, Hohenzollerndamm 411 und Geh. Reg.-Rat Dr. A. Weber, Berlin SW. 29, Belle Alliancestraße 39

Verlag von Gustav Fischer in Jena

76. Bd. — Jena, den 1. September 1915. — Heft 8

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark. Schwierige Tafeln werden einem Bogen gleich gerechnet. — Die Hefte erscheinen zwanglos je nach dem vorliegenden Stoffe.

JAN 11 1916

Paul Altmann

Luisenstraße 47. Ecke Schumannstr. **Berlin N.W. 6,** Luisenstraße 47. Ecke Schumannstr.

Fabrik und Lager

aller Apparate und Utensilien für Chemie, Bakteriologie, Mikroskopie und Hygiene.

Versandfähig!

Am Lager sofort lieferbar:

Agar-Agar in Fäden

Fertige Nährböden

Kolle-Schalen Drigalski-Schalen

Petri'sche Doppelschalen

Flaschen zur Aufnahme von Impfstoff

Ampullen

Sterilisiertes Blut-Serum keimfrei!

in Verschluss-Flaschen

150 gr Inhalt

a) von Pferdeblut à Fl. 2,50 M.

b) von Rinder- oder Hammelblut à Flasche 3,00 M.

Ausführliche illustrierte Kataloge

Serodiagnostische Apparate. Schüttelapparate. Centrifugen.

Autoklaven. Desinfektionsapparate. Neue Wasseruntersuchungsapparate etc. etc.

Deckglas-Schneideanstalt. — Anfertigung von Nährmaterial

Farbstoffe in Substanz und Lösungen, vorschriftsmäßig gereinigt

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:30 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

F. Kral's bakteriologisches Museum

Wien IX, Zimmermanngasse 3

Abgabe von Bakterien, Hefen, Pilzen, Musealkulturen, mikroskopischen Präparaten von Mikroorganismen, Photogrammen, Diapositiven und Nährböden.

Wir beabsichtigen das von F. Kral begründete bakteriologische Museum zu ergänzen und eine **Centralstelle** aller bekannten Mikroorganismen zu schaffen. Aus diesem Grunde ergeht an die P. T. Vorstände der bakteriolog. Institute die Bitte, dem Museum die Listen der Institutssammlung überlassen zu wollen und in Tauschverkehr zu treten.

Die Herren Autoren werden gebeten, die neugezüchteten Originalkulturen dem Museum überlassen zu wollen. Die Kulturen stehen jederzeit dem Autor kostenfrei zur Verfügung.

Priv.-Doz. Dr. Ernst Přibram

Institut für Gärungsgewerbe und Stärkefabrikation

Berlin N. 65, Seestraße.

Praktikanten-Laboratorium

für angewandte Bakteriologie.

E. Leitz

Mikroskope und Laboratoriumsbedarf

Berlin NW. 6.

Luisen-Str. 45

Versandgefässe

für infektiöses Material

genau nach ministerieller Vorschrift.

Agar-Agar in Pulver und Fäden

Fertige Nährböden aller Art, Trocken-Nährböden.

Brutschränke — Desinfektionsgeräte — Sterilisatoren.

Kolle-, Petri- und Drigalskischalen.

Serumflaschen, Ampullen.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Technik von Gummisaugkappe und Glaskapillare

und ihre Anwendung in der Medizin und Bakteriologie.

Von

Sir **A. E. Wright**, M. D., F. R. S.,

Direktor der Abteilung für therapeutische Immunisierung, St. Marys Hospital, London W.
früher Professor der Pathologie, Army Medical School, Netley.

Uebersetzt von **Martha Marquardt**, Oberursel-Frankfurt a. M.

Mit 79 Abbildungen im Text und 6 Tafeln.

1914. (XV, 235 S.). **Preis: 7 Mark 50 Pf.**

Inhalt: 1. Apparatus und Materalien für die Durchführung der beschriebenen Methoden. — 2. Methoden für die Glasbearbeitung und das Ausziehen der für die Technik erforderlichen Glasröhrchen. — 3. Detaillierte Anweisung zum Herstellen und Graduieren von Glasutensilien für die Blutuntersuchung. — 4. Allgemeine Prinzipien der Technik. — 5. Methode zur Gewinnung von Blut für die Untersuchung, zum Abfüllen desselben in eine Blutkapsel, Präparieren eines „Pooled Serum" und zur Beurteilung der Blutbeschaffenheit durch makroskopische Beobachtung. — 6. Das Präparieren von Blutausstrichen für die mikroskopische Untersuchung. — 7. Andere Methoden der Blutuntersuchung, als die Bestimmung der bakteriotropen Kräfte. — 8. Die Bestimmung der agglutinierenden, bakteriziden und bakteriolytischen Kraft der Blutflüssigkeiten. — 9. Die Bestimmung der opsonischen Kraft des Blutes. — 10. Ueber die Komplementablenkung Bordet-Gengous und die Wassermannreaktion. — 11. Die Technik in der Vakzinetherapie.

Medizinische Klinik, 1914, Nr. 50 vom 13. Dezember:

Wright zeigt in dem vorliegenden Buche, wie die verschiedensten, auch quantitativen Untersuchungen mit minimalen Flüssigkeitsmengen ausgeführt werden können, wenn man die Reaktion in Capillaren vor sich gehen läßt. Aus der Fülle der beschriebenen Methoden seien von bakteriologisch-serologischen die Agglutinin-, Bakteriolysin- und Opsoninbestimmung sowie die Wassermannsche Reaktion, von Blutuntersuchungsmethoden die Bestimmung der Gerinnungszeit, der Alkalescenz und des Magnesiumgehalts hervorgehoben. Je zahlreicher die Aufgaben werden, die uns bei der Untersuchung von Körperflüssigkeiten gestellt werden, um so mehr werden wir zur möglichsten Ausnutzung des Untersuchungsmaterials auf Mikromethoden angewiesen sein. Aus diesem Grunde verdient die Wrightsche Methodik, die sicher noch eines weiteren Ausbaues fähig ist, volle Beachtung. Allerdings erfordert sie liebevolle Vertiefung in die Technik. Das Werk, das schon vor einiger Zeit in englischer Sprache erschienen ist und jetzt in guter Uebersetzung vorliegt, gibt hierzu eine ausgezeichnete Anleitung, die auch anscheinend nebensächliche, aber für die praktische Ausführung wichtige technische Winke nicht vergißt, so daß das eigne Einarbeiten bei einigem guten Willen sicher möglich sein wird.

Kurt Meyer (Berlin.)

Therapeutische Monatshefte, XXVIII. Jahrgang. November 1914:

Das reich mit instruktiven Abbildungen ausgestattete Buch ist zum größten Teil der Technik bakteriologischer und serologischer Diagnostik gewidmet. Aber es enthält einen kurzen Anhang, der die Methodik der Vakzinetherapie in so vorzüglicher Weise beleuchtet, daß jeder Praktiker in die Möglichkeit versetzt wird, sie mit selbstbereiteten Vakzinen auszuüben. Nicht nur die eingehende und jede kleinste Prozedur veranschaulichende Schilderung setzt ihn dazu in Stand, sondern vor allem die Tatsache, daß gemäß Wrights Anleitung ohne jegliche Laboratoriumsapparatur mit den allerprimitivsten Mitteln gearbeitet werden kann. . . . . .

Der auch dem Praktiker wertvolle Inhalt läßt die Defekte der Uebersetzung vergessen.

Loewe.

Münchener medizinische Wochenschrift, Nr. 17, 27. April 1915:

Alles was Wright an Methoden und praktischen Kunstgriffen ersonnen hat, ist bis ins kleinste und elementarste in diesem Buche niedergelegt, von der Technik des Glasblasens angefangen. Es gibt kaum eine bakteriologische oder hämatologische Untersuchungsmethode, die er nicht mit seinen größtenteils selbst verfertigten Instrumenten ausführte. Die außerordentliche Vorliebe für minutiöseste Präzisionsarbeit und gewissenhafte Exaktheit tritt dem Leser des Buches entgegen und wird ihm Freude machen, auch wenn er seine Methode nicht mit denen Wrights zu vertauschen gedenkt.

L. Saathoff-Oberstdorf.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Soeben erschien:

Fritz Müller.

Werke, Briefe und Leben.

Gesammelt und herausgegeben

von

Prof. Dr. **Alfred Möller** (Eberswalde).

Erster Band:

Gesammelte Schriften

soweit sie bereits früher im Druck erschienen sind.

(Arbeiten aus den Jahren 1844—1899 [248 Nummern], mit einem Nachtrage, enthaltend die deutschen Übersetzungen portugiesischer Arbeiten.)

2 Bände Text (1510 Seiten) mit 303 Abbildungen und **1 Atlas mit 85 Tafeln.** Lex.-Format.

Preis: kartoniert 150 Mark.

Seit dem im Jahre 1897 erfolgten Tode des großen Beobachters in Blumenau (Brasilien) ist der Herausgeber bemüht gewesen, den literarischen Nachlaß Fritz Müllers zu sammeln, um den Ertrag dieses ganz der Beobachtung der lebenden Natur gewidmeten Lebens der Wissenschaft nutzbar zu machen oder zu erhalten. Der vorliegende erste Band bringt in zwei Teilen Text und einem Atlas die 248 bisher im Druck erschienenen Arbeiten Fritz Müllers, von denen nur eine einzige als selbständiges Buch in den Handel kam, während alle übrigen in sehr vielen verschiedenen Zeitschriften des In- und Auslandes zerstreut und daher teilweise nur schwer zugänglich waren. Die für die „Archivos" des Museums in Rio de Janeiro portugiesisch geschriebenen umfangreichen, außerordentlich wertvollen Arbeiten sind bisher deutschen Forschern wohl nur durch Auszüge und Berichte bekannt geworden. Sie sind jetzt in der Urschrift und in deutscher Uebersetzung aufgenommen.

Für Zoologen und Botaniker bergen Fritz Müllers Schriften eine ungeahnte Fülle zuverlässigster Beobachtungen und feinsinniger Anregungen, die besonders dem jüngeren Nachwuchs der Naturforscher wieder leicht zugänglich zu machen der Herausgeber für eine dankenswerte Aufgabe, ja geradezu für eine Pflicht der deutschen Wissenschaft hielt. Denn die Arbeitsweise und Beobachtungsart und nicht minder die Darstellungskunst des „Fürsten der Beobachter" können für alle Zeit als vorbildlich betrachtet werden.

Das mit Literaturnachweisen versehene ausführliche Inhaltsverzeichnis und ein Namenverzeichnis am Schluß des Werkes werden allen arbeitenden Biologen die Benutzung dieser gewaltigen Tatsachensammlung wesentlich erleichtern.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF ILLINOIS AT URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-09-15 16:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

UNIVERSITY OF ILLINOIS-URBANA
589.05CE C001
ZENTRALBLATT FUR BAKTERIOLOGIE, PARASITE
76 1915
3 0112 009814754

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

Generated on 2019-09-15 16:31 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uiug.30112009814754
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google